



Titre: Biodégradation du résidu endogène de boues activées
Title:

Auteur: Abdellah Ramdani
Author:

Date: 2011

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Ramdani, A. (2011). Biodégradation du résidu endogène de boues activées [Ph.D. thesis, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/525/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/525/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Yves Comeau, & Peter Dold
Advisors:

Programme: Génie civil
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

BIODÉGRADATION DU RÉSIDU ENDOGÈNE DE BOUES ACTIVÉES

ABDELLAH RAMDANI

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR (Ph.D.)

(GÉNIE CIVIL)

MARS 2011

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée:

BIODÉGRADATION DU RÉSIDU ENDOGÈNE DE BOUES ACTIVÉES

présentée par : RAMDANI Abdellah

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiae Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Mme PRÉVOST Michèle, Ph.D., présidente

M. COMEAU Yves, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. DOLD Peter, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. PERRIER Michel, Ph.D., membre

M. VANROLLEGHEM Peter, Ph.D., membre

DÉDICACE

À l'âme de mon grand père et grand professeur Mohamed Ibn Abdellah qui m'a appris les valeurs d'honneur, de respect, de modestie, de sincérité et d'amour du savoir illuminant le chemin de ma vie.

À mes chers parents pour leur amour et appui inconditionnel depuis ma naissance. Qu'ils reçoivent ici toute ma reconnaissance et que ce doctorat soit une récompense symbolique pour leurs efforts inlassables.

À mon frère et mes trois sœurs.

À ma moitié et accompagnante permanente de vie, d'école et de département, ma chère femme Ilham Ennaouri qui a été une source continue d'amour et d'encouragement pendant toutes les phases de ce doctorat.

À mon adorable bébé Mohamed-Hachem qui a vu la lumière tout juste après la fin de la phase expérimentale de mon projet doctoral. Qu'il pardonne son papa et sa maman pour tout le stress qu'ils lui ont fait subir par leurs engagements d'études.

À tous les chérifiens Idrissides, descendants de Moulay Idriss, fondateur de la dynastie Idrisside ayant régné sur le nord du Maroc et l'ouest de l'Algérie entre les années 789 et 985.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce projet de doctorat, je tiens à adresser mes vifs remerciements à toutes les personnes qui m'ont apporté un soutien durant mon séjour d'études à l'École Polytechnique de Montréal.

Mes chaleureux remerciements s'adressent tout d'abord à mon cher directeur de recherche, le professeur Yves Comeau, qui a tout mis en œuvre pour que ce projet de doctorat soit réalisé dans des conditions très propices à la recherche. En plus d'avoir assuré le financement de ce projet sur toute la période de mes études de maîtrise et de doctorat, M. Comeau a su réunir des partenaires industriels importants dont la contribution a été d'une valeur ajoutée pour mon projet. Il a, en l'occurrence, été présent pendant toutes les phases de ce projet par ses conseils, orientations et suggestions particulièrement très déterminants pour l'avancement de l'ensemble du travail réalisé.

Des remerciements particuliers doivent aller à l'ex-professeur et président actuel *d'EnviroSim Associates Ltd*, Dr Peter Dold qui, malgré ses charges multiples, a accepté de codiriger ce doctorat et de mettre sa grande expertise au profit de mon projet pour m'assurer un encadrement particulièrement très enrichissant sur le plan théorique. Ses encouragements, conseils, orientations et révisions d'articles étaient des éléments clés quant à la valorisation de mes travaux de recherche.

Je tiens à remercier vivement tous les partenaires de ce projet (John Meunier inc., Veolia Eau, *EnviroSim Associates Ltd*, le conseil de recherche en sciences naturelles et génie (CRSNG), la ville de Saint-Hyacinthe et le réseau canadien de l'eau) pour le soutien financier qu'ils ont assuré pour ce projet et pour les nombreux échanges et discussions fructueux pendant nos réunions périodiques. À ce niveau, je tiens à remercier chaleureusement Messieurs Alain Gadbois, Daniel Lamarre et Stéphane Délérís.

J'adresse mes remerciements à tous les membres du Laboratoire de génie de l'environnement. Je commence par nos chers techniciens Denis Bouchard et Mélanie Bolduc pour leur support et aide

inconditionnels pendant toute la durée de ce projet sans oublier mes collègues d'équipe : Marc-André Labelle, Majdala Mansour-Geoffrion, Patrick Ramsay, Reza Salehi, Carl Graham, François Desjardins, Antonio Vides, Marie-Laure De Boutray et Fannie Côté.

Un grand merci ira à Lucie Jean, associée de recherche et responsable de laboratoire au centre interuniversitaire de recherche sur le cycle de vie des produits, procédés et services (CIRAIG) pour son soutien dans les analyses d'acides gras volatils par chromatographie en phase gazeuse.

Finalement, j'adresse mes remerciements à tous les membres du département des génies civil, géologique et des mines et à toute la communauté polytechnicienne.

RÉSUMÉ

Les systèmes de boues activées opérés en pratique avec limitation en substrat, génèrent un résidu endogène suite à l'oxydation de la biomasse. Des informations très limitées existent dans la littérature quant à la nature, la composition et la biodégradabilité de cette fraction de boues.

La plupart des études faisant appel à des procédés de digestion de boues ont focalisé leur effort sur le développement, la conception et l'optimisation des procédés sans accorder une attention particulière à l'effet des digestions sur les fractions composant ces boues, en particulier celles considérées non biodégradables dans les systèmes de boues activées opérés à des temps de rétention de solides conventionnels (5 à 20 d) : résidu endogène (X_E) et fraction non biodégradable acheminée par l'affluent ($X_{U,Inf}$) dans une station d'épuration.

Les quelques études dans lesquelles la biodégradation du résidu endogène a été abordée, ne ciblaient pas cette fraction puisque les boues investiguées dans ces études contenaient également la composante $X_{U,Inf}$. De plus, les résultats de ces études n'étaient pas concluants quant à la biodégradation du résidu endogène sous des conditions aérobies ou anaérobies.

L'objectif de ce projet était de caractériser la composition (chimique et biochimique) du résidu endogène et d'évaluer sa biodégradation sous différents modes de digestion (aérobie, anaérobie et de fermentation intermittente) à l'échelle du laboratoire dans des conditions bien contrôlées.

Afin de cibler le résidu endogène, un bioréacteur à membranes (MBR) a été opéré en régime permanent durant toute la phase expérimentale de ce projet pour générer les boues utilisées dans les différentes expérimentations et caractérisations. Ce système membranaire a été alimenté par un affluent synthétique soluble et complètement biodégradable dont la source de carbone est l'acétate de sodium. Cet affluent sans matière non biodégradable (organique ou inorganique), a permis de générer des boues constituées de seulement deux fractions : une biomasse hétérotrophe (X_H) et un résidu endogène (X_E), la biomasse nitrifiante (X_{ANO}) étant négligeable. Dans un tel système, la détermination de la fraction active (F_A) dans les boues générées à un SRT donné permettait de déterminer la proportion de la fraction endogène ($1-F_A$).

À partir des boues générées dans le MBR, il était possible d'isoler le résidu endogène en soumettant ces boues à une digestion aérobie prolongée en cuvée pour une durée de 3 semaines. Le X_E isolé a été caractérisé en termes d'analyses élémentaires pour les éléments majoritaires constituant la matière organique en traitement des eaux : carbone, azote, phosphore et soufre. Une caractérisation biochimique a été également effectuée sur le résidu endogène pour déterminer son contenu en substances polymériques extracellulaires (EPS). Des caractérisations similaires (analyse élémentaire et contenu en EPS) ont été réalisées sur les boues du MBR ($X_H + X_E$). Considérant les proportions de X_H et de X_E dans ces boues, il était possible de caractériser la biomasse hétérotrophe X_H par un rétro-calcul. Les résultats de ces caractérisations ont révélé que le résidu endogène possède une structure chimique significativement différente de celle de la biomasse active avec un contenu plus faible en matières inorganiques, en azote, en phosphore et en soufre. Leurs ratios relatifs de composition (exprimés par unité de VSS) ont été : 1 pour 4.2 pour les matières inorganiques, 1 pour 2.7 pour l'azote, 1 pour 5.3 pour le phosphore, 1 pour 3.2 pour le soufre et 1:0.98 pour le carbone. Ces analyses élémentaires ont été utilisées pour proposer des formules chimiques pour X_H et X_E : $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$ et $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$, respectivement. Le contenu en EPS a également confirmé cette différence de structure entre X_E et X_H : 11 à 17% en X_E pour 26 à 40% en X_H .

La biomasse hétérotrophe et le résidu endogène sont les composantes essentielles des deux principaux modèles mathématiques utilisés pour décrire le comportement des systèmes de boues activés : modèles de respiration endogène et de mort-régénération). Chaque modèle est décrit par trois paramètres gouvernant la production de boues, le rendement de la biomasse hétérotrophe (Y_H), le taux de respiration endogène (b_H) et la fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f). Face à la grande variabilité constatée dans la littérature pour ces paramètres, il a été proposé de les réévaluer pour un système alimenté en acétate sous des conditions aérobies ou anoxies. Les résultats obtenus ont montré que la biomasse croît selon un rendement d'acétate de 0.567 ± 0.014 , se dégrade selon un taux de respiration endogène de 0.237 ± 0.005 et génère une fraction endogène de 0.209 ± 0.004 . Ces résultats ont été utilisés dans les différentes simulations développées dans ce projet.

Afin d'évaluer la biodégradabilité du résidu endogène, deux unités de digestion en cuvée ont été opérées à 35°C sous des conditions anaérobies et de fermentation intermittente pour une durée de 90 d. L'interprétation des résultats basée sur les paramètres du modèle de respiration endogène, a

montré que le résidu endogène a été dégradé sous les deux conditions testées mais à un taux de dégradation faible, taux qui était relativement plus important sous des conditions de fermentation intermittente qu'anaérobies. La modélisation des matières volatiles en suspension dans les deux unités de digestion a permis de déterminer des taux de dégradation du résidu endogène de 0.005 et de 0.012 d⁻¹ en anaérobie et sous des conditions de fermentation intermittente, respectivement.

En se basant sur les données des tests en cuvée suggérant l'utilisation d'un long temps de rétention des solides, deux unités de digestion membranaires (MDU) recevant une alimentation quotidienne en boues du MBR, ont été opérées à 20°C pour une durée de 80 d, sous des conditions complètement aérobies et de fermentation intermittente. Dans ces unités, le temps de rétention des solides a été dynamiquement augmenté comme aucune purge de solides n'a été considérée. Les résultats de cette investigation ont confirmé la biodégradation du résidu endogène et ont indiqué que le matériel colloïdal filtrable généré, de taille entre 0.04 and 0.45 μm , contenait une fraction récalcitrante constituée possiblement de polysaccharides liés à des protéines qui s'accumulait dans le MDU sous les deux conditions. La modélisation des résultats du MDU en considérant une cinétique de dégradation du X_E de premier ordre a permis de déterminer des valeurs du taux de dégradation du résidu endogène (b_E) de 0.0065 et 0.0072 d⁻¹ sous des conditions aérobies et de fermentation intermittente, respectivement.

Afin de quantifier l'effet de la température sur le taux de dégradation du résidu endogène pour les conditions les plus favorables (aération intermittente), deux tests de digestion en cuvée ont été opérés à 20 et 30°C pour une durée de 150 d. Les résultats obtenus dans ces deux tests comparés à celui précédemment réalisé à 35°C, ont été utilisés pour de déterminer un taux de dégradation du résidu endogène de 0.0075 d⁻¹ à 20°C et un coefficient de température θ de 1.033, en plein accord avec les résultats du MDU indiquant une forte concordance dans les méthodes utilisés.

En plus des essais de digestion, l'ozonation du résidu endogène a été étudiée en objectif complémentaire dans cette thèse. Les résultats de ces tests ont montré qu'une solubilisation complète du X_E était possible mais à de fortes doses spécifiques en ozone au-delà de 1.4 g O₃/g X_E (en unité COD). La solubilisation du X_E se produisait de façon linéaire à un rendement d'ozonation de 4.7 g fTOC/g O₃ (carbone organique total filtré à 0.45 μm) et ce jusqu'à une dose spécifique de 0.45 g O₃/g X_E correspondant à 85% de X_E solubilisé. À cette dose, les sous-produits d'ozonation montraient un degré de biodégradabilité de 0.25 g BOD₅/g X_E (en unité

COD). En dépassant de cette dose, la solubilisation du X_E consomme des doses énormes d'ozone suite à la réoxydation des sous-produits d'ozonation.

Dans cette thèse, des ratios de composition typiques et des formules chimiques ont été proposées pour X_H et X_E et les principaux paramètres des modèles biocinétiques de boues activées ont été déterminés. Cet apport constitue une contribution originale au domaine de modélisation des systèmes de traitement des eaux usées, et aidera les ingénieurs et les professionnels à mieux caractériser les fractions de boues et à quantifier avec précision la production de boues et la consommation d'oxygène, notamment dans les modèles de boues activées.

Ce travail a confirmé la biodégradabilité du résidu endogène de boues activées "non biodégradable", et ce à des SRTs longs à un faible taux de dégradation. Une dégradation plus importante du X_E a été observée sous des conditions de fermentation intermittente qu'anaérobies ou aérobies. Des produits endogènes récalcitrants de taille inférieure à $0.45 \mu\text{m}$ ont été générés. Ces produits contribuent à la COD filtrée non biodégradable à l'effluent (ne provenant pas de l'affluent). Ce constat a mis en évidence une question qui devrait être abordée dans le fractionnement de la COD de l'affluent utilisé dans la modélisation des systèmes de boues activées.

La biodégradabilité lente du résidu endogène signifie probablement que les organiques non biodégradables de l'affluent sont également biodégradables à un lent taux de dégradation. Cet aspect mérite plus d'investigation. Pour les applications à grande échelle, cela signifie soit que ces composés très lentement biodégradables peuvent être dégradés dans des systèmes à longs SRTs avec une alternance de conditions anaérobie-aérobie, ou qu'une partie de ces composés peut être retirée de la boue elle-même par des procédés tels que le microtamisage ou l'hydrocyclonage. En améliorant leur biodégradation ou leur enlèvement, le rendement observé pourrait être sensiblement diminué par rapport aux procédés classiques de boues activées.

Sur la base de ces résultats, certains aspects sont recommandés pour plus d'investigation: a) déterminer l'effet d'un SRT extrêmement long sur la biodégradation du résidu endogène dans l'expérience du MDU (rétention complète des solides pouvant aller jusqu'à un an), b) caractériser microbiologiquement la biomasse développée dans le MDU, et c) caractériser et évaluer le potentiel de biodégradation du $X_{U,Inf}$ dans des expériences spécifiquement conçues.

ABSTRACT

The activated sludge systems operated in practice with limited substrate, generate an endogenous residue as result of biomass oxidation. Very limited information is available in the literature regarding the nature, the composition and the biodegradability of this fraction of sludge.

Most studies dealing with sludge digestion processes have focused their efforts on developing, sizing and optimizing processes without giving special attention to the effect of digestion on sludge components, especially those considered to be unbiodegradable in activated sludge systems operated at conventional solids retention time (5 to 20 d): endogenous residue (X_E) and unbiodegradable particulate organics ($X_{U,Inf}$) originating from the influent in a wastewater treatment plant.

The few studies which addressed the issue of the biodegradation of the endogenous residue, did not target this fraction since sludges investigated in these studies also contained the component $X_{U,Inf}$. Moreover, findings from these studies did not conclude on the biodegradability of the endogenous residue either under aerobic or anaerobic conditions.

The objective of this project was to characterize the composition (chemical and biochemical) of the endogenous residue and to evaluate its potential biodegradation under different modes of digestion (aerobic, anaerobic and intermittent fermentation) at laboratory scale in well controlled conditions.

To target the endogenous residue, a membrane bioreactor (MBR) was operated under steady state conditions for the whole experimental duration of this project to generate the activated sludge used in various experiments and characterizations. The MBR system was fed a synthetic soluble and completely biodegradable influent with sodium acetate as the sole carbon source. This influent, which contained no influent unbiodegradable organic or inorganic materials, was used to generate sludge composed of essentially two fractions: a heterotrophic biomass (X_H) and an endogenous residue (X_E), the nitrifying biomass (X_{ANO}) being negligible (less than 2%). In such a system, the determination of the active sludge fraction (F_A) at a given SRT allowed to determine the proportion of the sludge endogenous fraction ($1-F_A$).

Starting from the MBR sludge, it was possible to isolate the endogenous residue by subjecting this sludge to prolonged aerobic batch digestion for a duration of 3 weeks. The isolated X_E was characterized in terms of elemental analysis for the major elements constituting the organic matter in wastewater treatment: carbon, nitrogen, phosphorus and sulfur. A biochemical characterization was also performed on the endogenous residue to determine its extracellular polymeric substances (EPS) content. Similar characterizations (elemental analysis and EPS content) were performed using the MBR sludge ($X_H + X_E$). Considering the proportions of X_H and X_E in the MBR sludge, it was possible to characterize the heterotrophic biomass X_H by retro-calculation. The results obtained from these characterizations showed that the endogenous residue has a chemical composition which is significantly different from that of the active biomass with a lower content of inorganic matter, nitrogen, phosphorus and sulfur. Their relative composition ratios (compared ratios were expressed per VSS unit) were 1 to 4.2 for inorganic material, 1 to 2.7 for nitrogen, 1 to 5.3 for phosphorus, 1 to 3.2 for sulfur and 1 to 0.98 for carbon. These elemental analyses were used to propose chemical formulas for X_H and X_E as $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$ and $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$, respectively. Results from EPS analyses also confirmed this difference in composition between X_E and X_H : 11 to 17% in X_E versus 26 to 40% in X_H , respectively.

The heterotrophic biomass and the endogenous residue are the main components of the two main mathematical models used to describe the behaviour of activated sludge systems, endogenous respiration and death-regeneration models. Each model is described by three parameters governing the biological sludge production, the heterotrophic biomass yield (Y_H), the endogenous respiration rate (b_H) and the fraction accumulating as endogenous residue (f). Faced with the great variability shown in the literature for values of these parameters, it was proposed to reevaluate these parameters for a system grown on acetate under either aerobic or anoxic conditions. The results obtained showed that the biomass grew according to an acetate yield of 0.567 ± 0014 g COD/g COD, decayed at an endogenous decay rate of 0.237 ± 0005 d⁻¹ and generated an endogenous fraction (f) of 0.209 ± 0004 . These results were used for various simulations developed in this project.

To assess the biodegradability of the "unbiodegradable" component X_E , two batch digestion units operated at 35°C were run under either anaerobic or intermittent fermentation conditions for 90 days. Interpretation of data based on the parameters of the endogenous respiration model, showed

that the endogenous residue was degraded under both conditions but at a slow rate which was higher under intermittent fermentation than aerobic conditions. Modeling volatile suspended solids degradation in the two units for these two conditions gave endogenous residue decay rates of 0.005 d^{-1} and 0.012 d^{-1} in anaerobic and intermittent fermentation conditions, respectively.

Based on data from batch tests suggesting the use of a long retention time of solids, two membrane digestion units (MDU) receiving a constant daily fed of the MBR waste activated sludge, were run at 20°C for a duration of 80 days, under either fully aerobic or intermittent fermentation conditions. In these units, the retention time of solids was dynamically increased since no wastage of solids was considered. Results from this investigation indicated that the colloidal material with size between $0.04 \mu\text{m}$ and $0.45 \mu\text{m}$ was shown to contain a recalcitrant fraction possibly composed of polysaccharides bound to proteins which accumulated in the MDU under both conditions. Modeling the MDU results by considering a first-order decay of X_E allowed to determine values of the endogenous residue decay rate (b_E) of 0.0065 and 0.0072 d^{-1} under fully aerobic and intermittent fermentation conditions, respectively

To assess the effect of the temperature on the endogenous residue decay rate for the most favourable conditions (intermittent fermentation conditions), two batch digestion tests were run at 20 and 30°C for a period of 150 d. The results obtained in these two tests compared with the finding of the test previously conducted at 35°C were used to determine an endogenous residue decay rate of 0.0075 d^{-1} at 20°C and a temperature coefficient θ of 1.0325, in close agreement with MDU results indicating a high concordance in the methods used.

In addition to digestion tests, the ozonation of the endogenous residue was studied as a complementary objective in this thesis. Results from these tests showed that a complete solubilization of X_E was possible but at high specific doses of ozone in excess of $1.4 \text{ g O}_3 / \text{g } X_E$ (in COD units). The solubilization of X_E was shown to be linear with a yield of $4.7 \text{ g fTOC} / \text{g O}_3$ (total organic carbon filtered at $0.45 \mu\text{m}$) up to a specific dose of $0.45 \text{ g O}_3 / \text{g } X_E$ corresponding to 85 % of X_E solubilized. At this dose, the by-products of ozonation showed a degree of biodegradability of $0.25 \text{ g BOD}_5 / \text{g } X_E$. Exceeding this dose, the solubilization of X_E consumed large doses of ozone due to the reoxidation of the ozonation by-products.

In this thesis, typical composition ratios and formulas were proposed for X_H and X_E and core parameters of biokinetic models were determined. This information constitutes an original contribution to the field of wastewater treatment systems modeling and will assist engineers and professionals to better characterize sludge fractions and to accurately quantify sludge production and oxygen consumption, notably in activated sludge models.

This work confirmed the biodegradability of the "non biodegradable" endogenous residue of activated sludge at long SRTs and at a slow decay rate. Greater decay of X_E was observed under intermittent fermentation than either anaerobic or aerobic conditions. Endogenous recalcitrant filtered products smaller than $0.45\mu\text{m}$ were generated. These products contribute to the effluent unbiodegradable filtered COD (not originating from the influent). This finding has highlighted an issue that should be addressed in the fractionation of the influent COD used in modeling activated sludge systems.

The slow biodegradability of the endogenous residue probably means that influent "unbiodegradable" organics are biodegraded at a slow rate as well. This aspect needs to be further investigated. For full scale applications, it means that either these very slowly biodegradable compounds can be biodegraded in long SRT systems with alternating anaerobic-aerobic conditions, or that a portion of them can be removed from the sludge itself by processes such as microscreening or hydrocycloning. By enhancing their biodegradation or their removal, the observed yield of waste activated sludge could be decreased significantly compared to conventional activated sludge processes. Based on these findings, some aspects are recommended for further investigation: a) to determine the effect of an extremely long SRT on the biodegradation of the endogenous residue in the MDU experiment (complete retention of solids for up to one year), b) to characterize microbiologically the biomass developed in the MDU, and c) to characterize and evaluate the potential biodegradation of $X_{U,Inf}$ in specifically designed experiments.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	VI
ABSTRACT.....	X
TABLE DES MATIÈRES	XIV
LISTE DES TABLEAUX.....	XXIII
LISTE DES FIGURES.....	XXV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XXIX
LISTE DES ANNEXES.....	XXXIX
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	1
1.1 Mise en contexte et problématique.....	1
1.2 Hypothèses scientifiques originales de recherche	3
1.3 Objectifs de recherche	5
CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE	7
2.1 Éléments de microbiologie : cellules et flocs bactériens.....	7
2.1.1 Composition des cellules.....	7
2.1.1.1 Composition typique des cellules de bactéries.....	8
2.1.1.2 Nutrition des microorganismes	8
2.1.1.3 Facteurs liés à l'environnement des microorganismes.....	11
2.1.2 Composition des flocs bactériens.....	11
2.1.2.1 Substances polymériques extracellulaires (EPS)	12
2.1.2.2 Cations et EPS dans les flocs de boues activées	13

2.1.2.3	Théorie de rapprochement par cations divalents	13
2.1.2.4	Aluminium et EPS.....	13
2.1.2.5	Fer et EPS.....	14
2.1.2.6	Agrégation de bactéries par adhésines	15
2.1.2.7	Extraction des EPS	17
2.1.3	Conclusions : Composition des VSS des boues activées	17
2.2	Mécanismes de production de boues dans les systèmes de boues activées	18
2.2.1	Processus microbiens influençant la production de boues	18
2.2.1.1	Croissance de la biomasse, utilisation de substrat et rendement cellulaire	18
2.2.1.2	Maintenance, métabolisme endogène, lyse, croissance cryptique et prédation .	19
2.2.1.3	Formation de produits microbiens solubles	20
2.2.1.4	Solubilisation de la matière organique particulaire.....	21
2.2.2	Formalisme mathématique des processus de production de boues	21
2.2.2.1	Caractérisation des eaux usées, éléments de fractionnement	21
2.2.2.2	Formulation des principaux mécanismes de production de boues	22
2.2.2.3	Production de boues	30
2.3	Aperçu sur les stratégies limitant la production de boues	35
2.3.1	Catégorisation des techniques de réduction de boues	36
2.3.2	Changements opérationnels sur le procédé biologique	37
2.3.2.1	Actions biologiques.....	37
2.3.2.2	Actions non biologiques.....	40
2.3.3	Post-traitement des boues.....	42
2.3.3.1	Traitements thermiques	42
2.3.3.2	Oxydation chimique	43

2.3.3.3	Procédés de digestion de boues	44
2.4	Procédé de bioréacteur à membranes	44
2.4.1	Définition et utilisation du procédé du MBR	44
2.4.2	Aperçu général sur le procédé de MBR	45
2.4.2.1	Caractéristiques du procédé de MBR	45
2.4.2.2	Caractéristiques des membranes	46
2.4.2.3	Traitements préliminaires nécessaires	51
2.4.2.4	Contrôle du colmatage des membranes	53
2.4.2.5	Conditions d'opération et performance des MBRs	54
2.4.3	MBR et réduction de la production de boues	55
2.4.3.1	MBR et SRT élevé	55
2.4.3.2	Système de boues activées conventionnels vs MBR	59
2.5	Procédés de digestion de boues	59
2.5.1	Techniques de digestion	60
2.5.1.1	Digestion aérobie	60
2.5.1.2	Digestion anaérobie	62
2.5.2	Techniques combinant la digestion de boues à d'autres prétraitements	65
2.5.3	Digestion de boues et dégradation du X_E et $X_{U,Inf}$	65
2.5.4	Digestion de boues et mécanismes de destruction des floccs bactériens	68
2.6	Ozonation et production de boues	69
2.6.1	Pouvoir oxydant de l'ozone	69
2.6.2	Ozone et traitement de boues	71
CHAPITRE 3	DÉMARCHE DE L'ENSEMBLE DU TRAVAIL DE RECHERCHE ET ORGANISATION GÉNÉRALE DE LA THÈSE	74

CHAPITRE 4	BIODEGRADATION OF THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE	78
4.1	Introduction	79
4.1.1	Endogenous residue in activated sludge systems	80
4.1.2	Mixed liquor composition in activated sludge	81
4.1.3	Determination of endogenous decay rate and mixed liquor components	82
4.1.4	Potential biodegradability of X_E	84
4.2	Material and Methods.....	86
4.2.1	Synthetic influent and activated sludge.....	86
4.2.2	Experimental setup.....	87
4.2.3	Analytical methods.....	88
4.3	Result and Discussion	89
4.3.1	MBR system for sludge generation.....	89
4.3.2	Decay rate, X_H and X_E in the MBR sludge	90
4.3.3	VSS, COD and VFAs in the digestion units	92
4.3.4	Soluble products of digestion.....	93
4.3.5	Modeling VSS and COD in the digestion units	95
4.3.6	Significance of results	96
4.3.6.1	Endogenous residue and extracellular polymeric substances	96
4.3.6.2	Extrapolation of results to full scale.....	98
4.4	Conclusions	99
CHAPITRE 5	CHARACTERIZATION OF THE HETEROTROPHIC BIOMASS AND THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE	100
5.1	Introduction	101
5.1.1	Biological fractions in activated sludge systems.....	102

5.1.2	Continuity in ASM models: Typical conversion ratios.....	104
5.1.3	Elemental analysis and continuity in mathematical models.....	104
5.1.4	Biological fractions and extracellular polymeric substances	105
5.2	Materials and methods	106
5.2.1	Characterization of X_H and X_E	106
5.2.2	MBR system, synthetic influent	107
5.2.3	Determination of the sludge active fraction	108
5.2.4	Elemental analysis, typical ratios and chemical formula	109
5.2.5	EPS extraction	112
5.2.5.1	Sonication.....	112
5.2.5.2	Heating	113
5.2.5.3	Formaldehyde + sodium hydroxide	113
5.2.5.4	Triton X-100.....	113
5.2.5.5	EPS measurements	113
5.2.5.6	Enzyme assays.....	114
5.2.6	Analytical methods.....	114
5.3	Results and discussion.....	115
5.3.1	Production of biological sludge ($X_H + X_E$)	115
5.3.2	Proportions of X_H and X_E in the MBR system.....	116
5.3.3	Typical ratios of the MBR sludge, X_E and X_H	118
5.3.4	Chemical formulas proposed for the MBR sludge, X_E and X_H	119
5.3.5	X_E , X_H and EPS.....	121
5.3.5.1	Yield of extraction, polysaccharides and proteins	121
5.3.5.2	Repartition of EPS between X_E and X_H in the MBR sludge	123

5.3.6	General discussion.....	124
5.3.6.1	Synthesis ISS in X_H and X_E	125
5.3.6.2	COD/VSS for X_H and X_E	126
5.3.6.3	Synthesis nitrogen and phosphorus in X_H and X_E	127
5.3.6.4	Importance of EPS in X_H and X_E	128
5.4	Conclusion.....	129
CHAPITRE 6 DETERMINING CORE PARAMETERS FOR ACTIVATED SLUDGE BIOKINETIC MODELS.....		135
6.1	Introduction	136
6.1.1	Background	138
6.1.1.1	Clarification of endogenous respiration versus death-regeneration modelling of decay	138
6.1.1.2	Impact of Y_H , b_H and f on sludge production calculations.....	139
6.1.2	Methods of determination of Y_H , b_H , f and b_E	142
6.1.2.1	Heterotrophic yield Y_H	142
6.1.2.2	Endogenous decay rate b_H	146
6.1.2.3	Endogenous fraction f	149
6.1.2.4	Endogenous residue decay rate b_E	150
6.2	Material and Methods.....	151
6.2.1	Endogenous decay rate b_H	151
6.2.2	Heterotrophic yield Y_H	152
6.2.3	Endogenous fraction f	153
6.2.4	Aerobic endogenous decay rate b_E	153
6.2.5	Experimental plan	153
6.2.6	Analytical methods.....	154

6.3	Results and discussion.....	154
6.3.1	Aerobic and anoxic decay rate b_H	154
6.3.2	Aerobic and anoxic heterotrophic yield Y_H	157
6.3.3	Endogenous fraction f	163
6.3.4	Aerobic endogenous residue decay rate b_E	164
6.3.5	General discussion.....	166
6.3.5.1	Endogenous decay rate b_H , effect of b_E	167
6.3.5.2	Heterotrophic yield Y_H , effect of b_E	168
6.3.5.3	Endogenous fraction f and endogenous residue decay rate b_E	169
6.3.5.4	Importance of Y_H , b_H , f and b_E	170
6.3.5.5	Modified endogenous respiration and death-regeneration models	170
6.4	Conclusion.....	171
CHAPITRE 7 BIODEGRADATION OF THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE IN A MEMBRANE BIOREACTOR WITH CONTINUOUS OR ON- OFF AERATION 179		
7.1	Introduction	180
7.2	Material and Methods.....	182
7.2.1	Experimental setup.....	182
7.2.2	Analytical methods.....	184
7.2.3	Simulations.....	185
7.3	Results and discussion.....	185
7.3.1	VSS removal, % X_E degraded	185
7.3.2	Filtered COD in the MDU	187
7.3.3	Proteins, polysaccharides in the MDU	190
7.3.4	COD fractionation of the MDU sludge	193

7.3.5	Filtered COD over the MDU-24 hour-operating cycle	194
7.3.6	Decay rate of X_E in the MDU.....	195
7.3.7	Effect of temperature on the decay rate of X_E	196
7.3.7.1	VSS and fCOD in batch tests	196
7.3.7.2	Decay rate of X_E , temperature coefficient.....	198
7.3.8	General discussion.....	200
7.3.8.1	MDU, dynamic SRT, aeration.....	200
7.3.8.2	Decay rate of X_E	201
7.3.8.3	Fate of filtered organic material	203
7.3.8.4	Impact of this study	203
7.4	Conclusion.....	205
CHAPITRE 8	DISCUSSION GÉNÉRALE	209
8.1	Synthèse de l'état des connaissances au début du projet	209
8.1.1	Structure et composition du résidu endogène	209
8.1.2	Paramètres du modèle de respiration endogène	210
8.1.3	Biodégradabilité du résidu endogène	210
8.1.4	Digestion des boues et du résidu endogène X_E	211
8.2	Sommaire des contributions originales de la thèse	211
8.3	Synthèse des éléments de contribution de la thèse.....	213
8.3.1	Composition du X_E et de X_H	213
8.3.2	Paramètres du modèle de respiration endogène	215
8.3.3	Biodégradation du X_E	217
8.3.4	Sous-produits de digestion	219
8.3.5	Ozonation du X_E	222

8.4	Validité des hypothèses scientifiques originales	223
8.4.1	Composition du X_E est différente de celle du X_H	223
8.4.2	Paramètres du modèle de respiration endogène avec acétate.....	224
8.4.3	SRT et biodégradation du résidu endogène.....	224
8.4.4	Effet du mode de digestion sur la dégradation du X_E	224
8.4.5	Solubilisation du X_E par ozonation	225
8.5	Impact de la thèse	225
8.5.1	Modèles de respiration endogène et de mort-régénération modifiés	225
8.5.2	Produits microbiens filtrables endogènes.....	226
8.5.3	Biodégradabilité du $X_{U,Inf}$	227
8.5.4	Extrapolation des résultats à pleine échelle.....	228
CHAPITRE 9	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	229
9.1	Composition du résidu endogène	229
9.2	Paramètres du modèle de respiration endogènes.....	229
9.3	Biodégradation du résidu endogène	230
9.4	Produits microbiens filtrables endogènes.....	231
9.5	Recommandations pour des travaux futurs	231
9.5.1	Optimisation du MDU.....	232
9.5.2	Caractérisation microbiologique du MDU	232
9.5.3	Caractérisation et biodégradation du $X_{U,Inf}$	233
RÉFÉRENCES.....		234
ANNEXES.....		256

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 - Description des composantes cellulaires bactériennes.....	8
Tableau 2.2 - Composition typique des cellules de bactéries	8
Tableau 2.3 - Fonctions des macroéléments dans la nutrition des microorganismes	9
Tableau 2.4 - Fonctions des macroéléments et d'éléments traces.....	10
Tableau 2.5 - Rendements de synthèse typiques dans le traitement des eaux usées.....	18
Tableau 2.6 - Paramètres biocinétiques et de caractérisation d'un affluent brut d'eau usée	34
Tableau 2.7 - Comparaison des caractéristiques des membranes de type MF et UF utilisées dans le traitement des eaux usées	51
Tableau 2.8 - Conditions d'opération et performances typiques des MBRs.....	54
Tableau 2.9- Caractéristiques d'affluent (Laera et al., 2005).....	57
Tableau 2.10 - Configurations pour le procédé de digestion aérobie.....	61
Tableau 2.11 - Configurations du procédé de digestion anaérobie	65
Tableau 2.12 - Comparaison du potentiel électrochimique des principaux agents oxydants	69
Tableau 2.13 - Résultats sur quelques études incluant une étape d'ozonation de boues activées .	72
Table 4.1 - Summary of determinations of the decay rate, active and endogenous fractions	91
Table 5.1 - Performances of the MBR system and mass balances.....	116
Table 5.2 - Summary of determinations of the decay rate, active and endogenous fractions	117
Table 5.3 - Typical ratios for MBR sludge, endogenous residue and active biomass	119
Table 5.4 - Chemical formulas for the endogenous and active fractions	120
Table 5.5 - Empirical chemical formulas for prokaryotic cells (after Rittmann and McCarty, 2001) formulas for the endogenous and active fractions	121
Table 5.6 - Summary of the characterization of the EPS extracted from the endogenous residue and the MBR sludge	124

Table 5.7 - Calculated EPS associated to the active biomass	124
Table 6.1- Parameters of the endogenous respiration models.....	139
Table 6.2 - Summary of determination of the aerobic and anoxic decay rates	157
Table 6.3 - Determination of the acetate heterotrophic yield ($Y_{H,Ac}$) under aerobic conditions..	160
Table 6.4 - Determination of the acetate heterotrophic yield ($Y_{H,Ac}$) under anoxic conditions ...	161
Table 6.5 - Determination of the citrate heterotrophic yield ($Y_{H,Ci}$) under aerobic conditions....	162
Table 6.6 - Determination of the citrate heterotrophic yield ($Y_{H,Ci}$) under anoxic conditions.....	162
Table 6.7 - Determination of the endogenous residue fraction (f) from steady state conditions .	164
Table 6.8 - Determination of the endogenous decay rate b_E from the 80 day aerobic digestion test at 20°C.....	166
Table 6.9 - Summary of determinations of Y_H , b_H , f and b_E	167
Table 7.1 - Evaluation of the percentage of X_E degraded in the MDU in runs 1 and 2	187
Table 7.2 - COD fractionation of the MDU sludge in runs 1 and 2 at day 80	193
Table 7.3 - Biokinetic and stoichiometric parameters.....	195
Table 7.4 - Summary of decay rates of X_E at different temperatures under intermittent fermentation conditions	199
Tableau A1.1 - Études portant sur le prétraitement thermique	257
Tableau A1.2 - Études portant sur le prétraitement chimique.....	258
Tableau A1.3 - Études portant sur le prétraitement ultrasonique.....	259
Tableau A1.4 - Études portant sur le prétraitement thermochimique	260
Tableau A1.5 - Études portant sur le prétraitement mécanique	261
Tableau A3.1 - Pompes péristaltiques alimentant les différentes solutions	273
Tableau A3.2 - Solutions concentrées et sels utilisés.....	275
Tableau A3.3 - Solution concentrée d'éléments traces	276

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 - Fractionnement de la COD totale d'un affluent d'eaux usées.....	22
Figure 2.2 - Modèle de respiration endogène.....	25
Figure 2.3 - Modèle de mort-régénération	26
Figure 2.4 - Production de boues dans un système de boues activées	31
Figure 2.5 - Répartition des fractions composant les VSS, ISS et TSS dans un système de boues activés pour des SRTs dans la plage 1 à 50 d.....	35
Figure 2.6 - Techniques de réduction de boues, adaptée de (Mahmood and Elliott, 2006) et améliorée	37
Figure 2.7 - Configurations des bioréacteurs à membranes, adaptée de (WEF, 2006)	45
Figure 2.8 - Comparaison des intervalles d'opération des procédés membranaires et des principaux constituants des eaux usées (tirée de Chevalier (2005))	47
Figure 2.9 - Schéma d'un module tubulaire, adaptée de (WEF, 2006).....	48
Figure 2.10 - Schéma d'une fibre creuse, adapté de (WEF, 2006)	49
Figure 2.11 - Schéma d'un module spiralé (tiré de Chevalier (2005))	49
Figure 2.12 - Schéma d'un module à membranes planes (tiré de Chevalier (2005)).....	50
Figure 2.13 - Évolution des VSS en MBR à rétention complète de solides (Laera et al., 2005) ...	56
Figure 2.14 - Accumulation des VSS dans des systèmes <i>fill-and-draw</i> (Washington and Hetling, 1965).....	58
Figure 2.15 - Enlèvement de VSS en fonction de T et du SRT (Metcalf&Eddy, 2003).....	61
Figure 2.16 - Principaux processus dans une digestion anaérobie de boues activées, adapté de van Haandel and Lubbe (2007)	63
Figure 2.17 - Effet de la température et du SRT sur le rendement de digestion (van Haandel and Lubbe, 2007)	64
Figure 2.18 - Relation entre la fraction active et l'enlèvement des VSS (Araujo et al., 1998).....	66

Figure 2.19 - Simulation des VSS et TSS avec un taux de dégradation du résidu endogène de 0.0075 d^{-1}	67
Figure 2.20 - Modes réactionnels de l’ozone (Délérès, 2001)	70
Figure 2.21 - Étapes du mode réactionnel indirect de l’ozone (Doré, 1989)	70
Figure 4.1 - Mathematical models for biomass decay: endogenous respiration and death-regeneration	81
Figure 4.2 - Mixed liquor composition in activated sludge systems	82
Figure 4.3 - Experimental setup of batch digestion tests	88
Figure 4.4 - Typical example of fitting predicted and measured VSS and OUR	91
Figure 4.5 - Evolution of the % VSS remaining in the two digestion units	92
Figure 4.6 - Filtered COD evolution	94
Figure 4.7 - Soluble end-products after 90 days	94
Figure 4.8 - Simulations of VSS and COD with and without X_E decay in the anaerobic unit (A) and in the alternating aerated and non-aerated unit (B).	96
Figure 5.1 - Functional Block diagram of this study	107
Figure 5.2 - Protocol for EPS extraction	114
Figure 5A.1 - Mass balances around the MBR system	134
Figure 6.1 - Main processes in the endogenous respiration and death-regenerations models	138
Figure 6.2 - Predictions of sludge production and oxygen consumption (A), and sludge organic fractions F_A , $F_{U,Inf}$ and F_E (B) for different values of Y_H , b_H and f for activated treatment of typical raw wastewater	142
Figure 6.3 Typical examples of fitting observed and predicted VSS and OUR under aerobic conditions (A) and NH_4 and NUR under anoxic conditions (B)	156
Figure 6.4 - Typical OUR and cumulative oxygen utilization profiles (A) and plots for acetate yield determination from a test combining the OUR and COD-based methods (B)	159

Figure 6.5 - Typical plots for anoxic yield determination from a test combining the NUR and COD-based methods	161
Figure 6.6 - Profiles of estimated heterotrophic biomass X_H and estimated and observed VSS in the MDU over time	165
Figure 6.7 - Original (A and C) and modified (B and D) endogenous respiration and death-regeneration models	171
Figure 7.1 - The 24 hour MDU operating cycle in run 1 (aerobic) and run 2 (intermittent fermentation)	184
Figure 7.2 - Profiles of VSS in the MDU under fully aerobic (AER.) and intermittent fermentation (INT. FERMENT.) conditions.....	186
Figure 7.3 - Profiles of filtered COD and VFAs in the MDU under fully aerobic (AER., A) and intermittent fermentation (INT. FERMENT., B) conditions	189
Figure 7.4 - Evolution of COD _{1.2} during the batch aerobic growth test using the MDU filtered material at day 80 (run 2)	190
Figure 7.5 - Profiles of proteins and polysaccharides in the MDU sludge supernatant and effluent in run 1 (A) and run 2 (C) with their colloidal and soluble fractions (run 1, B; run 2, D)...	192
Figure 7.6 - Profiles of filtered COD and VFAs in the MDU over 24 hour-operating cycle in run 1 (AER.) and run 2 (INT. FERMENT.)	194
Figure 7.7 - Observed and simulated VSS in the MDU in run 1 (AER.) and run 2 (INT. FERMENT.) with and without decay of X_E	196
Figure 7.8 - Evolution of the residual of VSS (A) and filtered COD (B) at 20 and 30°C under intermittent fermentation conditions	198
Figure 7.9 - Simulation of VSS with and without X_E decay at 20 and 30°C under intermittent fermentation conditions.....	199
Figure 7.10 - Fate of the mixed liquor particulate components at long SRTs	204
Figure A2.1 - Composition de la liqueur mixte dans des systèmes de boues activées alimentés en affluent réel et en substrat soluble (acétate)	263

Figure A2.2 - Montage des unités de digestion en cuvée.....	264
Figure A2.3 - Photo du montage du MDU.....	268
Figure A2.4 - Production, concentration et ozonation du X_E	270
Figure A3.1 - Système de bioréacteur à membranes utilisé pour la génération de boues.....	274
Figure A3.2 - Photos du MBR et du module membranaire ZW-10 de Zenon.....	276
Figure A7.1- Effet de l’ozone sur la solubilisation du résidu endogène	287
Figure A7.2 - Biodégradabilité des sous-produits d’ozonation du résidu endogène	289

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Vu le grand nombre de sigles et abréviations utilisés dans les articles à l'appui de cette thèse (rédigés en anglais), le choix a été fait de sorte que ces sigles et abréviations soient utilisés dans les parties rédigées en français pour minimiser la taille de cette liste.

AER	Aerated
ASM	Activated sludge model
ATAD	Autothermal thermophilic aerobic digestion
ATP	Adenosine triphosphate
BCA	Bicinchoninic acid
b_{20}	Endogenous decay rate of the heterotrophic biomass at 20°C
%B _{COD}	COD mass balance in %
%B _H	Hydraulic mass balance in %
%B _N	Nitrogen mass balance in %
%B _P	Phosphorus mass balance in %
BOD ₅	Five day biochemical oxygen demand
b_E	Decay rate of the endogenous residue
b_H	Endogenous decay rate of the heterotrophic biomass
b_T	Endogenous decay rate of the heterotrophic biomass at temperature T
BSA	Bovine serum albumin
C1B	Colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1E	Colloidal endogenous COD with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1-PR	Colloidal proteins with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1-PS	Colloidal polysaccharides with size ranging from 0.04 and 0.45 μm

C1-UNK	Colloidal unknown organic compounds with size ranging from 0.04 and
C2B	Colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2E	Colloidal endogenous COD with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-PR	Colloidal proteins with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-PS	Colloidal polysaccharides with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-UNK	Colloidal unknown organic compounds with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C _B	Colloidal biodegradable in the influent COD
C _E	Colloidal unbiodegradable organic matter from the endogenous process
cFTOCoz	Colloidal filtered total organic carbon (0.45 μm) of ozonated samples
COD	Chemical oxygen demand
COD _{1.2}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 1.2 μm filter
COD _{0.45}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 0.45 μm filter
COD _{0.04}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 0.04 μm filter
COD _e & J _{CODe}	MBR effluent COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
COD _i & J _{CODi}	MBR influent COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
COD _{t,inf}	Influent total COD
COD _w & J _{CODw}	MBR wastage COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
cOUR	Carbonaceous oxygen uptake rate (mg O ₂ /L/h)
C _{U,Inf}	Colloidal unbiodegradable organic matter either from the influent or from the X _{U,Inf} decay (expected)
Coz	Specific dose of ozone (g O ₃ /g COD)
DNA	Deoxyribonucleic acid

EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EPS	Extracellular polymeric substances
η_{oz}	Ozonation yield (g COD/g O_3)
f	Endogenous residue fraction
F_A	Volatile suspended solids heterotrophic active fraction
fBOD ₅	Filtered five day-biochemical oxygen demand
fCOD	Filtered chemical oxygen demand
$f_{CV,E}$	COD/VSS ratio for endogenous residue
$f_{CV,H}$	COD/VSS ratio for heterotrophic biomass
$f_{CV,U}$	COD/VSS ratio for influent unbiodegradable particulate organic
F_E	Volatile suspended solids endogenous fraction
ffTOC _{oz}	Flocculated and filtered total organic carbon (using a 0.45 μm filter) of ozonated samples
$F_{ISS,E}$	Synthesis ISS fraction associated to the endogenous residue (g ISS/g X_E)
$F_{ISS,H}$	Synthesis ISS fraction associated to the heterotrophic biomass (g ISS/g X_H)
F/M	Ratio food to microorganisms in activated sludge system (g COD/g MLVSS/d)
f_N	Nitrogen content of the heterotrophic biomass (g N/g X_H)
f_{NE}	Nitrogen content of the endogenous residue (g N/g X_E)
f_{NH}	Nitrogen content of the heterotrophic biomass (i.e. f_N)
f_{UP}	Fraction of the influent unbiodegradable organic
fTOC _{oz}	Filtered total organic carbon (using a 0.45 μm filter) of ozonated samples
f_{US}	Fraction of the influent unbiodegradable soluble organic

G6P-DH	6-phosphate dehydrogenase
Gen ASDM	General activated sludge-digestion model
HRT	Hydraulic retention time
$\text{HO}_2 \cdot$	Hydroperoxide radical
INT. FERMENT.	Intermittent fermentation
ISS	Inorganic suspended solids
$J_{\text{COD}_{\text{cb}}}$	COD flux consumed in the MBR (g O ₂ /d)
$J_{\text{COD}_{\text{den}}}$	COD flux consumed in the selector (g O ₂ /d) for denitrification
k_{H}	Hydrolysis coefficient (g COD/g COD/d)
K_{S}	Half-saturation constant for substrate (mg COD/L)
K_{X}	Specific half-saturation constant (g COD/g COD)
LSP	Low sludge process [®]
MBR	Membrane bioreactor
MDU	Membrane digestion unit
MF	Microfiltration
MLSS	Mixed liquor suspended solids
MLVSS	Mixed liquor volatile suspended solids
m_{S}	Specific rate of substrate utilization for maintenance (g COD/g VSS/d)
MU	Ultrafiltration
$M\Delta\text{S}_{\text{B}}$	Daily load of substrate biodegradable substrate (g COD/L.d)
MO_{C}	Mass of oxygen consumed for carbonaceous substrate per unit of influent total COD

MVSS	Mass of VSS per unit of influent total COD
MX_E	Mass of the endogenous residue per unit of influent total COD
MX_H	Mass of the heterotrophic biomass per unit of influent total COD
$MX_{U,Inf}$	Mass of the unbiodegradable particulate organic per unit of influent total COD
μ_{max}	Maximum specific growth of heterotrophic biomass (d^{-1})
NH_3	Ammonia
NO_2	Nitrite
NO_3	Nitrate
nOUR	Nitrogenous oxygen uptake rate ($mg\ O_2/L/h$) associated with nitrification
NO_{X_e} & $J_{NO_{X_e}}$	MBR effluent nitrate + nitrate concentration ($mg\ N/L$) & flux ($g\ N/d$)
NO_{X_i} & $J_{NO_{X_i}}$	MBR influent nitrate + nitrate concentration ($mg\ N/L$) & flux ($g\ N/d$)
NO_{X_r} & $J_{NO_{X_r}}$	MBR internal recycle nitrate concentration ($mg\ N/L$) & flux ($g\ N/d$) to the Selector
NO_{X_s} & $J_{NO_{X_s}}$	MBR selector effluent nitrate concentration ($mg\ N/L$) & flux ($g\ N/d$)
NO_{X_w} & $J_{NO_{X_w}}$	MBR wastage nitrate + nitrate concentration ($mg\ N/L$) & flux ($g\ N/d$)
NUR	Nitrate uptake rate ($mg\ NO_3-N/L/h$)
$O_2^{\cdot -}$	Superoxide radical ion
O_b	MBR dissolved oxygen concentration ($mg\ O_2/L$)
O_C	Carbonaceous oxygen demand in the endogenous respiration model
O_C'	Carbonaceous oxygen demand in the death-regeneration model
OH^{\cdot}	Hydroxyl radical
O_i & J_{O_i}	Influent dissolved oxygen concentration ($mg\ O_2/L$) & flux ($g\ O_2/d$)

O_r & J_{Or}	Internal Recycle dissolved oxygen concentration (mg O_2/L) & flux (g O_2/d) to the selector
ORP	Oxydo-reduction potential
OSA	Oxic-settling-anaerobic
OUR	Oxygen uptake rate (mg $O_2/L/h$)
OUR_E	Endogenous oxygen uptake rate (mg $O_2/L/h$)
o- PO_4	Orthophosphate
$pCOD_E$	Particulate COD of the MBR endogenous residue
$pCOD_H$	Particulate COD of the MBR heterotrophic biomass
$pCOD_{SLG}$	Particulate COD of the MBR sludge
P_e & J_{Pe}	MBR effluent total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)
PES	Polyethersulfone
PHB	Polyhydroxybutyrate
P_i & J_{Pi}	MBR influent total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)
POL	Polysaccharides concentration in COD unit
PP	Polypropylene
PRO	Proteins concentration in COD unit
PS	Primary sludge
Pt	Total phosphorus (similar to TP)
PVDF	Polyvinylidene-fluoride
PVP	Polyvinylpyrrolidone
P_w & J_{Pw}	MBR wastage total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)

Q_i	MBR influent flow rate (L/d)
Q_w	MBR Wastage flow rate (L/d)
Q_e	MBR Effluent flow rate (L/d)
Q_r	MBR internal recycle flow rate to the selector (L/d)
Q_S	MBR-Selector effluent flow rate (L/d)
Q_{bw}	MBR Backwash flow rate (L/d)
Q_f	MBR filtered water flow rate (L/d)
r_{ENDO}	Oxygen utilization rate (mg O_2 /L/h) for the endogenous substrate in aerobic growth tests
r_{EXO}	Oxygen utilization rate (mg O_2 /L/h) for the exogenous substrate in aerobic growth tests
r_O	Total oxygen utilization rate (mg O_2 /L/h) in aerobic growth tests
RNA	Ribonucleic acid
S_A	Soluble readily biodegradable substrate as VFAs in ASM models
S_B	Soluble readily biodegradable substrate
S_E	Soluble unbiodegradable organics from the endogenous process
S_F	Soluble readily biodegradable fermentable substrate in ASM models
S_I	Influent unbiodegradable soluble fraction in ASM models
S_{II}	Influent unbiodegradable soluble inorganic fraction
S_{IG}	Influent soluble biodegradable inorganic fraction
S_{Ig}	Soluble inorganic fraction expected to result from the degradation of X_{Ig}
S_{IBU}	Influent soluble biologically utilisable inorganic material incorporated in the

biomass and the endogenous residue as synthesis inorganic suspended solids

S_{IP}	Influent soluble and precipitable inorganic fraction
SMP	Soluble microbial products
S-PR	Soluble proteins with size less than $0.04 \mu m$
S-PS	Soluble polysaccharides with size less than $0.04 \mu m$
SRT	Sludge retention time (d)
S_S	Soluble readily biodegradable substrate in ASM models (similar to S_B)
$S_{U,Inf}$	Soluble unbiodegradable organics either from the influent or from the $X_{U,Inf}$ decay (expected)
S-UNK	Soluble unknown organics with size less than $0.04 \mu m$
S-VFA	Soluble readily biodegradable characterized as VFAs
S_{VFA}	Soluble readily biodegradable characterized as VFAs
SVI	Sludge volume index
T	Temperature
THMs	Trihalomethanes
TKN	Total Kjeldahl nitrogen
TKN_e & J_{TKN_e}	MBR effluent total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TKN_i & J_{TKN_i}	MBR influent total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TKN_w & J_{TKN_w}	MBR wastage total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TMP	Transmembrane pressure
TN	Influent total nitrogen
TOC	Total organic carbon

TOCoz	Total organic carbon of ozonated samples
TOUR	MBR total oxygen uptake rate ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) including nitrification
TP	Total phosphorus (similar to Pt)
TSS	Total suspended solids
θ	Temperature correction factor
V_b & V_s	MBR and selector volumes (L)
VFAs	Volatile fatty acids
VSS	Volatile suspended solids
VSS _U	Volatile suspended solids concentration at day 21 of batch aerobic digestion tests
X	Particulate COD in the growth tests
X_{ANO}	Active ammonia nitrifying organisms
X_E	Endogenous residue
X_B	Slowly biodegradable substrate (i.e. X_S)
X_C	Slowly biodegradable colloidal material based on the fractionation of WERF (2003)
X_H	Active heterotrophic biomass
X_I	Unbiodegradable organics based on the fractionation of WERF (2003)
X_{Ig}	Influent unbiodegradable inorganics (i.e. X_{II})
X_{II}	Influent unbiodegradable inorganic particulate fraction based on WERF (2003)
X_{IP}	Inorganic suspended solids in activated sludge system from precipitated inorganic material (S_{IP})

X_{IS}	Synthesis inorganic suspended solids
X_S	Slowly biodegradable substrate based on the fractionation of WERF (2003)
$X_{U,Inf}$	Influent unbiodegradable organics
Y	Yield expressed as g of biomass produced per g of substrate consumed
Y_H	Heterotrophic yield on soluble and readily biodegradable substrate
$Y_{H,Ac}$	Heterotrophic yield with acetate
$Y_{H,Ci}$	Heterotrophic yield with citrate
Y_{obs}	Observed yield
WAS	Waste activated sludge
WWTPs	Wastewater treatment plants

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 - Prétraitements et digestion	257
ANNEXE 2 - Méthodologie par objectif spécifique	262
ANNEXE 3 - Description du système de bioréacteur à membranes.....	271
ANNEXE 4 - Dosages des acides gras volatils, des polysaccharides et des protéines	277
ANNEXE 5 - Analyse de l'activité enzymatique dans les extraits des EPS	281
ANNEXE 6 - Dosage d'ozone soluble.....	282
ANNEXE 7 - Ozonation du résidu endogène	283

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Mise en contexte et problématique

Durant quasiment tout le 19^e siècle, la pratique la plus commune pour la gestion des eaux usées était la dilution en milieu récepteur. Les premiers travaux sur la traitabilité des eaux usées n'ont connu le jour que pendant la dernière décennie du 19^e siècle et le tout début du 20^e (Martin, 1927). À ce niveau, les études effectuées au Royaume-Uni par Mather et Platt en 1893, Fowler en 1898 et Henderson en 1905 portaient sur l'effet de l'aération sur la stabilisation des eaux usées. En 1912, Clark and Gage ont mis en œuvre les premiers réacteurs de type *fill and draw*, améliorés ensuite par Fowler qui a introduit le principe de recirculation des boues (Martin, 1927). Il a fallu attendre l'année 1914 et les travaux de Arden et Lockett pour que le concept de boues activées soit utilisé pour la première fois décrivant ainsi le principe de Fowler quant à la concentration des boues par décantation secondaire et recirculation vers le bioréacteur aéré (Martin, 1927; Metcalf & Eddy, 2003).

Depuis lors, le procédé de boues activées a fait l'objet de plusieurs études et recherches et a connu plusieurs améliorations tant sur le plan théorique que pratique, améliorations qui se doivent principalement aux progrès réalisés dans le domaine de la microbiologie des eaux usées, dans les méthodes d'analyses mais aussi au niveau de la modélisation mathématique. Ce développement s'est traduit au fil du temps par la mise au point de plusieurs configurations du procédé original s'adaptant davantage à la nature des eaux usées à traiter et permettant aux opérateurs des stations d'épuration de se conformer au mieux aux différentes exigences de rejet continuellement mises à jour.

À l'heure actuelle, le procédé de boues activées est la solution biologique la plus utilisée pour le traitement secondaire des eaux usées. Un tel traitement fait intervenir toute une panoplie de microorganismes qui constituent la flore ou la biomasse épuratrice. Les rôles de cette biomasse sont : transformer (oxyder) la matière biodégradable (soluble et particulaire) en sous-produits acceptables dans le milieu récepteur, capter ou incorporer les solides en suspension et les colloïdes non décantables dans des floccs bactériens ou biofilms, transformer ou enlever les

nutriments (azote, phosphore) et dans certains cas, enlever des constituants organiques traces (Metcalf & Eddy, 2003).

Certes, les procédés conventionnels de traitement des eaux usées par boues activées permettent d'arriver à un effluent de bonne qualité et de répondre conséquemment aux exigences de rejet, cependant ceux-ci sont réputés être de grands générateurs de boues excédentaires. Ces boues sont désormais considérées des déchets ou matières résiduelles à impact environnemental au même titre que l'eau usée. Face à des contraintes environnementales de plus en plus sévères conjuguées à des contraintes sociales, économiques et techniques, la gestion de ces résidus devient un problème réel qui nécessite une résolution rationnelle.

La production de boues excédentaires se fait selon un taux de 10 à 100 L par kg de BOD₅ enlevé (Metcalf & Eddy, 2003). Les membres de la communauté européenne ont produit, à eux-seuls, 6.5 tonnes de boues sur base sèche en 1991/1992, chiffre qui était supposé doubler aux horizons de 2005 (Wei et al., 2003). Le traitement et le dépôt de ces boues, contenant à l'origine plus de 99% d'eau, restent assez dispendieux occasionnant des coûts pouvant atteindre 50%, voire même 60% des frais d'opération des stations d'épuration (Canales et al., 1994; Low and Chase, 1999; Wei et al., 2003).

Au Québec, la fraction valorisable des boues municipales ne représentait que 10% de la quantité annuelle générée en 2002 (218 000 tonnes sur base sèche), le reste étant enfoui ou incinéré (Recyc-Québec, 2003). De 1994 à 2002, la production de ces boues n'a cessé d'augmenter, situation qui nécessite la mise au point de procédés la limitant davantage. La réduction de la production de boues à la source (station d'épuration) s'inscrit dans le cadre d'un processus de gestion durable des matières résiduelles et présente un intérêt économique manifeste.

Par ailleurs, la partie organique des boues générées dans les stations d'épuration, mesurée communément en tant que matières volatiles en suspension VSS, est composée de quatre fractions particulières, à savoir : la biomasse active principalement hétérotrophe (X_H) et dans une faible proportion autotrophe (X_{ANO}), la fraction particulière lentement biodégradable (X_B) souvent négligeable, la fraction organique acheminée par l'affluent ($X_{U,Inf}$) et le résidu endogène (X_E) généré par le processus de respiration endogène (incluant dégradation, lyse, maintenance et prédation). Les deux dernières composantes sont considérées non biodégradables dans les

procédés de boues activées. Le contenu des VSS en ces deux fractions dépend du temps de rétention des boues (SRT) et pour le $X_{U,Inf}$ de sa concentration à l'affluent.

Il est clair que toute stratégie visant la minimisation de la production de boues doit cibler la dégradation des fractions X_E et $X_{U,Inf}$. En effet, la biomasse active peut être biodégradée par digestion aérobie ou anaérobie mais le X_E et le $X_{U,Inf}$ ne le sont pas a priori.

Par ailleurs, les recherches ayant été consacrées à l'étude des procédés visant la réduction de la production de boues ont toujours exprimé les performances de ces procédés en termes de décroissance du rendement cellulaire (Y_{obs}) ou d'enlèvement apparent de VSS ou de COD. L'effet de ces procédés sur chaque composante particulière des boues, et particulièrement sur X_E et $X_{U,Inf}$, a été rarement étudié. Par procédés biologiques, la dégradabilité de ces deux composantes reste trop controversée (Araujo et al., 1998; Ekama et al., 2007; Johnson et al., 2008; Jones et al., 2007; Jones et al., 2008; Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009). De loin, des cinétiques de biodégradation trop lentes aussi bien en aérobie qu'en anaérobie, pourraient expliquer cette situation.

1.2 Hypothèses scientifiques originales de recherche

Les études antérieures ayant abordé la biodégradation du résidu endogène (X_E) ont été réalisées dans des conditions qui ne ciblaient pas cette fraction de boues activées (Araujo et al., 1998; Jones et al., 2007; Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009). En effet, ces auteurs ont travaillé avec des boues générées dans des systèmes de boues activées à pleine échelle ou dans des systèmes de laboratoire alimentés en eaux usées réelles. Cette façon de procéder ne permettait pas de cibler le X_E puisque les boues générées dans ces études contenaient en plus du résidu endogène et de la biomasse hétérotrophe, les deux composantes non biodégradables (organique $X_{U,Inf}$ et inorganique X_{Ig}) acheminées par les affluents des systèmes dans lesquels elles ont été générées. Dans ces systèmes où les deux fractions organiques X_E et $X_{U,Inf}$ sont présentes dans les boues activées, il est difficile de démontrer que l'une des deux composantes soit biodégradable mais pas l'autre. Et dans le cas où ces deux composantes se révélaient toutes les deux biodégradables, la détermination de la cinétique de dégradation pour chaque composante ne serait pas facile à réaliser.

L'originalité scientifique de cette thèse a été d'évaluer la biodégradation du résidu endogène dans des conditions bien contrôlées à partir de boues synthétiques composées de seulement deux composantes (X_H et X_E) générées dans un système alimenté en acétate. Cette façon a permis de cibler le résidu endogène et d'établir avec précision son pourcentage dans les boues synthétiques générées une fois la fraction active déterminée (X_H). Une digestion aérobie prolongée de ces boues en cuvée a permis d'isoler le résidu endogène facilitant ainsi la caractérisation de sa composition (chimique et biochimique) mais aussi celle de la biomasse hétérotrophe. La connaissance de la proportion du X_E dans les boues synthétiques a permis d'évaluer avec une grande précision le potentiel de biodégradation du résidu endogène lorsque ces boues sont soumises à différents modes de digestion. Le pourcentage de X_E dégradé et la cinétique de dégradation ont pu être déterminés dans ces conditions bien contrôlés.

Les hypothèses scientifiques originales de ce projet de recherche ont été formulées comme suit :

1. La composition du résidu endogène est différente de celle de la biomasse hétérotrophe.

Cette hypothèse sera vérifiée en déterminant et comparant les contenus du résidu endogène et de la biomasse hétérotrophe (peu documentés dans la littérature) a) en éléments chimiques les plus représentatifs de la liqueur mixte (carbone, hydrogène, oxygène, azote, phosphore et soufre) et b) en substances polymériques extracellulaires. L'hypothèse sera réfutée si les compositions du résidu endogène et de la biomasse active se révélaient non significativement différentes.

2. La biomasse hétérotrophe croît dans un système alimenté en acétate selon un rendement cellulaire ($Y_{H,ac}$) inférieur à la valeur de 0.666 g COD/g COD largement utilisée dans les modèles mathématiques. Cependant, elle se dégrade selon un taux de respiration endogène (b_H) de 0.24 d⁻¹ et génère une fraction endogène (f) de 0.20 indépendamment du substrat utilisé.

Cette hypothèse sera vérifiée en réalisant des tests en cuvée pour la détermination de ces paramètres à partir de boues générées dans un système de boues activées alimenté en acétate. Cette hypothèse sera réfutée si $Y_{H,ac}$ avec l'acétate est égal ou supérieur à 0.666 g COD/g COD ou si la valeur de b_H diffère de 0.24 d⁻¹ ou si la valeur de f est différente de 0.20.

3. Un long temps de rétention des boues (> 30 d à 35°C) permet de rendre le résidu endogène plus biodisponible et augmente sa biodégradabilité indépendamment du mode de digestion.

Cette hypothèse sera vérifiée par des tests de digestion en cuvée pour déterminer la biodégradation du résidu endogène sous des rétentions de solides au-delà de 30 d à 35°C. Cette hypothèse sera réfutée si aucune biodégradation du résidu endogène n'a été observée.

4. Le mode de digestion des boues (aérobie, anaérobie ou aération intermittente) affecte l'efficacité d'enlèvement des VSS et la cinétique de dégradation du résidu endogène.

Cette hypothèse sera vérifiée par des tests de digestion sous différents modes (aérobie, anaérobie et de fermentation intermittente) pour déterminer et comparer l'efficacité d'enlèvement des VSS, le degré de dégradation du résidu endogène ainsi que le taux de sa dégradation. Cette hypothèse sera réfutée si aucune différence dans les degrés et cinétiques de dégradation du résidu endogène n'a été observée.

5. L'ozone en tant qu'oxydant puissant peut solubiliser complètement le résidu endogène et générer des sous-produits partiellement biodégradables.

Cette hypothèse sera vérifiée par des tests d'ozonation du résidu endogène en cuvée pour déterminer les sous-produits filtrables et le degré de solubilisation. Cette hypothèse sera réfutée si le degré de solubilisation du résidu endogène était faible ou aucune biodégradation des sous-produits d'ozonation n'a été observée.

1.3 Objectifs de recherche

Ce projet de recherche fait partie intégrante du projet intitulé «faible production de boues en bioréacteur à membranes » dirigé par le professeur Yves Comeau en collaboration avec les partenaires *EnviroSim Associates Ltd* (Hamilton, Ontario, Canada), John Meunier Inc., Veolia Eau (France), la Ville de St-Hyacinthe et le CRSNG via son programme de recherche et développement coopérative.

L'objectif général de ce travail était de caractériser la composition du résidu endogène de boues activées et d'évaluer sa biodégradabilité sous différents modes de digestion (aérobie, anaérobie et de fermentation intermittente).

L'objectif général de ce travail était de caractériser la composition du résidu endogène de boues activées et d'évaluer sa biodégradabilité sous différents modes de digestion (aérobie, anaérobie et aération intermittente).

Les objectifs spécifiques abordés dans cette thèse sont les suivants :

- Opérer un système de boues activées (MBR) alimenté en affluent synthétique complètement biodégradable (source de carbone : acétate) pour cibler le résidu endogène X_E et caractériser les boues générées en termes de proportions de X_H et de X_E ;
- Déterminer l'effet d'un long SRT (> 30 d à 35°C) sous des conditions anaérobies et de fermentation intermittente sur la biodégradation du résidu endogène en cuvée;
- Caractériser la composition chimique (CHNOPS) et biochimique (EPS) de X_E et X_H ;
- Évaluer les paramètres du modèle de respiration endogène pour un système en acétate dans des conditions aussi bien aérobie qu'anoxie: rendement de croissance (Y_H), taux de respiration endogène (b_H) et fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f);
- Déterminer l'effet d'une rétention complète de solides sur la biodégradation du X_E dans une unité de digestion membranaire (MDU) recevant une alimentation ponctuelle en boues activées sous des conditions aérobies ou de fermentation intermittente et caractériser les produits filtrables de la digestion;
- Caractériser la cinétique de dégradation du X_E ;
- Déterminer l'effet de l'ozone à différentes doses sur la dégradation du X_E (optionnel).

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

Les différents niveaux de traitement mis en œuvre dans une station d'épuration (préliminaire, primaire, secondaire, tertiaire et de boues) génèrent des déchets ou sous-produits solides dont la nature varie d'un niveau à l'autre. Parmi ces solides, on peut trouver les objets volumineux retenus au dégrillage, les sables, les graisses et les boues primaires et secondaires. Les biosolides en général sous forme liquide ou semi-liquide, contiennent typiquement de 0.25 à 12% de matière sèche sur une base massique (Metcalf & Eddy, 2003). Une bonne connaissance des mécanismes aboutissant à la génération de ces boues permet de définir au mieux les moyens nécessaires pour minimiser leur production à la source (station d'épuration).

Cette revue de littérature présentera dans un premier lieu quelques éléments de microbiologie qui ont trait à la composition des cellules et des floccs bactériens et mettra l'accent sur l'importance des substances polymériques extracellulaires et leur rôle dans la biofloculation. Dans un second lieu, les mécanismes de production de boues dans les systèmes de boues activés seront identifiés et formulés mathématiquement. Ensuite, un survol des technologies utilisées pour la réduction de la production de boues sera présenté. Une attention particulière sera accordée au procédé de bioréacteur à membranes, aux procédés de digestion (aérobie ou anaérobie) de boues et aux techniques d'ozonation appliquées aux boues activées. Ces technologies seront détaillées séparément.

2.1 Éléments de microbiologie : cellules et floccs bactériens

2.1.1 Composition des cellules

D'un point de vue microbiologique, les cellules bactériennes sont fondamentalement constituées des composantes suivantes : paroi cellulaire, membrane cellulaire, cytoplasme, DNA, RNA, *Flagella*, *Fimbria* et *pili*. Les fonctions de ces éléments sont résumées dans le Tableau 2.1 adapté de Metcalf & Eddy (2003).

Tableau 2.1 - Description des composantes cellulaires bactériennes

Composante	Fonction
Paroi	Assure la force et l'intégrité de la cellule et protège sa membrane.
Membrane	Contrôle le passage des substrats vers la cellule et l'excrétion des sous-produits métaboliques.
Cytoplasme	Contient le matériel assurant les fonctions cellulaires: H ₂ O, nutriments, enzymes, ribosomes, etc.
Inclusions cytoplasmiques	Matériel stocké: polyhydroxybutyrate (PHB), glycogène, phosphates, lipides et granules de soufre.
DNA	Molécule à double structure hélicoïdale qui contient les informations génétiques déterminant la nature des protéines et enzymes produits.
DNA plasmique	Petites molécules circulaires de DNA pouvant fournir des caractéristiques génétiques
Ribosomes	Particules du cytoplasme composées de RNA et de protéines et qui sont les sites où les protéines sont produites.
<i>Flagella</i>	Protéines sous forme de cheveux qui prolongent, à partir du cytoplasme, la longueur de plusieurs bactéries à l'extérieur de la cellule. Elles servent à la mobilité des bactéries.
<i>Fimbria et pili</i>	Protéines courtes sous forme de cheveux (pili sont plus longues) assurant l'adhérence des bactéries aux surfaces environnantes. Pili servent également à l'attachement entre bactéries.

2.1.1.1 Composition typique des cellules de bactéries

Les cellules des microorganismes eucaryotes ont la composition typique présentée au Tableau 2.2 adapté de (Metcalf & Eddy, 2003).

Tableau 2.2 - Composition typique des cellules de bactéries

Composantes majeures du matériel cellulaire		Éléments chimiques du matériel cellulaire			
Composante	% du poids sec	Élément	% du poids sec	Élément	% du poids sec
Protéines	55.0	Carbone	50.0	Potassium	1.0
Polysaccharides	5.0	Oxygène	22.0	Sodium	1.0
Lipides	9.1	Azote	12.0	Calcium	0.5
DNA	3.1	Hydrogène	9.0	Magnésium	0.5
RNA	20.5	Phosphore	2.0	Chlorures	0.5
Autres (sucres, acides aminés)	6.3	Soufre	1.0	Fer	0.2
				Autres éléments traces	0.3

2.1.1.2 Nutrition des microorganismes

Il est largement reconnu que les cellules des microorganismes ont trois besoins nutritionnels fondamentaux : l'eau, l'énergie et les éléments chimiques utilisés pour la synthèse. L'eau représentant jusqu'à 80% de la composition totale des cellules, est utilisée comme élément de transport de tous les solutés nutritionnels. Les éléments chimiques sont utilisés pour la synthèse

du matériel cellulaire et pour assurer le fonctionnement normal des composantes cellulaires en tant qu'activateurs d'enzymes (Horan and Mara, 2003; Madigan et al., 2003; Metcalf & Eddy, 2003). Les principaux éléments chimiques utilisés pour la croissance sont :

- **Éléments majeurs (macroéléments)**

Il s'agit des éléments suivants : C, N, H, O, S et P. La fonction de chaque élément est résumée dans le Tableau 2.3.

Tableau 2.3 - Fonctions des macroéléments dans la nutrition des microorganismes

Élément	Fonction
Carbone	Le carbone se trouve sous forme d'hydrates de carbone, de lipides ou de protéines. Il est utilisé dans la synthèse cellulaire et représente environ 50% du poids sec des cellules. La source de carbone pour les microorganismes hétérotrophes est la matière organique alors qu'elle est le dioxyde de carbone pour les autotrophes.
Azote	L'azote est utilisé pour la composition des acides aminés formant les protéines des cellules. Il rentre dans la synthèse des acides nucléiques, de quelques hydrates de carbone et lipides ainsi que des cofacteurs d'enzymes. La plupart des organismes eucaryotes utilisent les formes inorganiques d'azotes : sels d'ammonium, nitrites ou nitrates. Les nitrates sont utilisés comme accepteur d'électrons en absence d'oxygène.
Hydrogène, Oxygène, Soufre et phosphore	L'hydrogène et l'oxygène rentrent dans la composition de plusieurs types de matières organiques. En règle générale, le besoin en ces deux éléments est satisfait une fois le carbone (substrat) est disponible. L'oxygène moléculaire est utilisé en tant qu'accepteur final d'électrons en milieu aérobie. Le soufre est utilisé pour la synthèse d'acides aminés (cystine, cysteine.etc.) mais aussi de vitamines (biotine et thiamine). Le phosphore est utile pour la formation des acides nucléiques et d'adénosine triphosphate (ATP), composante très importante dans le transfert d'énergie.

- **Éléments mineurs (microéléments) et éléments traces**

Les microorganismes ont également besoin, pour leur nutrition, de microéléments et d'éléments traces (Horan and Mara, 2003; Madigan et al., 2003; Metcalf & Eddy, 2003). Ceux-ci sont requis mais dans de faibles proportions comparés aux macroéléments. Les microéléments essentiels sont : K, Ca, Mg, Na et Fe. Les principaux éléments traces sont : Mn, Zn, Co, Mo, Ni et Cu. Les fonctions de certains de ces microéléments et éléments traces sont regroupées dans le Tableau 2.4 (Horan and Mara, 2003; Madigan et al., 2003).

Tableau 2.4 - Fonctions des macroéléments et d'éléments traces

Élément	Fonction
Sodium	Activateur d'enzymes, transport à travers la membrane, maintenance de l'intégrité de la cellule, facilite la croissance.
Potassium	Cofacteur pour des enzymes, maintenance de la balance de pression osmotique.
Fer	Le fer intervient dans le transport d'électrons et de protéines. Il est un composant d'enzymes et de coenzymes : cytochromes, catalases, peroxydases, protéines avec fer et soufre, oxygénases et toutes les nitrogénases.
Magnésium	Activateur d'enzymes, particulièrement pour les réactions de kinase, composant de chlorophylle, stabilise les ribosomes, les membranes cellulaires et les acides nucléiques.
Calcium	Activateur d'enzymes, particulièrement pour les kinases des protéines, composant d'acide dipicolinique des endospores bactériens.
Cobalt	Composant de la vitamine B ₁₂ et de ses coenzymes dérivatives.
Manganèse	Activateur d'enzymes, particulièrement pour les enzymes transférant les groupes phosphates.
Molybdène	Activateur d'enzymes : flavines, nitrogénase, nitrate réductase, sulfite oxydase, DMSO-TMAO réductase et quelques formates déshydrogénases.
Cuivre	Activateur d'enzymes, intervient dans la respiration cellulaire comme constituant du cytochrome C oxydase et dans quelques superoxydes dismutases. En photosynthèse, il est un constituant de la plastocyanine.
Zinc	Le zinc entre dans la composition de l'anhydrase carbonique et de l'alcool déshydrogénase à zinc, des RNA et DNA polymérases et de quelques protéines qui s'attachent au DNA.
Nickel	Le nickel a un site actif dans la plupart des hydrogénases, dans le coenzyme F430 de méthanogènes, dans la déshydrogénase du monoxyde de carbone et dans l'uréase.
Chrome	Le chrome est requis pour les mammifères pour le métabolisme du glucose. Toutefois, il n'est pas connu si les microorganismes l'utilisent.
Sélénium	Le sélénium est présent dans les formates déshydrogénases, dans quelques hydrogénases et dans l'acide aminé dit sélénocystéine.
Tungstène	Le tungstène intervient dans quelques formates hydrogénases et oxotransférases des hyperthermophiles.
Vanadium	Le vanadium est contenu dans les enzymes vanadium nitrogénases et bromoperoxydases.

2.1.1.3 Facteurs liés à l'environnement des microorganismes

Outre les besoins nutritifs, une croissance optimale des microorganismes nécessite des conditions spécifiques pour le milieu dans lequel ils se développent, principalement en termes de température et de pH (alcalinité). Les bactéries hétérotrophes et autotrophes qui constituent la biomasse épuratrice dans les stations d'épuration se reproduisent de façon optimale à des températures avoisinant 20°C (30°C pour les autotrophes). Quant au pH optimal, des valeurs dans la plage 6.5-7.5 sont recommandées (Metcalf & Eddy, 2003). Pour une nitrification complète, un besoin en alcalinité s'impose, un pH avoisinant 7.5 est plus approprié (à 20°C).

2.1.2 Composition des floccs bactériens

La composition des floccs bactériens comporte les éléments suivants : microorganismes (en majorité des bactéries), matière organique et matière inorganique sous forme de cations et anions (Frolund et al., 1996; Higgins and Novak, 1997; Jorand et al., 1995; Rittmann and McCarty, 2001). Sur le plan biochimique, ces floccs bactériens ou bio-agrégats sont composés de cellules et de matière organique située sur et à l'extérieur de celles-ci caractérisée communément en tant que substances polymériques extracellulaires (EPS).

Par ailleurs, les modèles mathématiques utilisent la notion de fractionnement de la matière organique et inorganique composant l'affluent et les boues activées pour définir les processus microbiens et les cinétiques qui les gouvernent permettant de prédire les flux de matières dans un système de boues activées. Cette approche simpliste ne prend pas en compte l'origine, l'utilisation et le devenir des EPS. Ces composantes présentent une source intéressante de matières organiques composant les boues activées (Frolund et al., 1996; Liu and Fang, 2002). À cet effet, les performances des systèmes sont souvent exprimées en termes d'enlèvements de COD ou de VSS mais les mécanismes qui décrivent les étapes de formation (biofloculation) mais aussi de destruction des floccs bactériens restent méconnus. Il a été montré dans quelques études que des changements apportés à l'affluent en termes de contenu en cations avaient un impact assez remarquable sur la biofloculation mais aussi sur la destruction des floccs par digestion aérobie ou anaérobie avec plus d'enlèvements de VSS et de COD (Higgins and Novak, 1997; Holbrook et al., 2005; Li, 2005; Murthy et al., 1998; Park et al., 2006).

2.1.2.1 Substances polymériques extracellulaires (EPS)

Outre leur rôle primordial dans la biofloculation, les EPS sont responsables d'une part de la digestion enzymatique des grandes molécules de substrats organiques et leur transformation en d'autres molécules simples et plus accessibles aux microorganismes (Frolund et al., 1996; Guellil et al., 2001). Les EPS ont la faculté d'assurer la communication et la reconnaissance entre cellules et permettent de les protéger en cas de changements brusques dans les conditions de leur milieu environnant (Cioci, 2006).

Les caractérisations faites sur des EPS extraites des boues activées ont montré que celles-ci ont une composition hétérogène. En effet, selon les méthodes utilisées pour leur extraction, différents types d'EPS sont générés. Cependant, il y a un consensus entre les auteurs sur les types de composantes organiques les constituant : protéines, polysaccharides, lipides, acides nucléiques et substances humiques (Dignac et al., 1998; Frolund et al., 1996; Higgins and Novak, 1997; Liu and Fang, 2002). Selon des études récentes, les EPS sont formées majoritairement de protéines et de polysaccharides. Les protéines se trouvent en quantité deux à trois fois plus élevée que les polysaccharides (Comte et al., 2007; Dignac et al., 1998; Frolund et al., 1996; Higgins and Novak, 1997; Liu and Fang, 2002; Nielsen et al., 1996; Urbain et al., 1993). Il a été rapporté dans quelques études que les EPS contiennent également des glycoprotéines, caractéristique qui suggère qu'une partie de polysaccharides et de protéines extraite provienne de glycoprotéines (Gorner et al., 2003; Jorand et al., 1995). Les glycoprotéines présentent deux caractéristiques importantes : acide (faible point isoélectrique) et hydrophobique (Jorand et al., 1995). À cet effet, ils peuvent contribuer à l'agrégation des microorganismes par des liaisons électrostatiques (cations) mais aussi par des interactions hydrophobiques.

Ces considérations montrent non seulement que les EPS résultent de diverses sources mais aussi que les boues activées renfermant ces EPS ont des aspects physiologiques différents. Les EPS peuvent provenir d'une sécrétion de la biomasse active vers le milieu extracellulaire, de composés résultant de lyse cellulaire, hydrolyse ou digestion de substances exo-cellulaires et de matière organique adsorbée du milieu environnant (substances humiques) acheminée par l'affluent (Dignac et al., 1998; Nielsen et al., 1996; Urbain et al., 1993).

2.1.2.2 Cations et EPS dans les floccs de boues activées

La nature poly-anionique de la surface des cellules suggère que les ions métalliques aient un rôle important dans la biofloculation (Wilén et al., 2003). En effet, les cations à différents états de valence sont impliqués dans la formation de liaisons ioniques pour quelques EPS et assurent dès lors leur maintien en structures ordonnées (stabilité des bio-agrégats). Cependant, les cations trouvés dans les eaux usées (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$) n'ont pas tous le même rôle dans la biofloculation considérant leurs différentes caractéristiques biochimiques (valence, rayon, propriétés liées au potentiel redox, concentration, etc.). Une étude récente (Park et al., 2006) traitant de ce sujet a révélé que ces cations varient dans les systèmes de boues activées, ce qui conduit à des différences considérables au niveau des caractéristiques biologiques et physiologiques des boues qui y sont produites. L'étude a montré que la digestibilité de ces boues dépend de la nature des cations contenus dans leurs floccs.

2.1.2.3 Théorie de rapprochement par cations divalents

Cette théorie a été présentée comme un mécanisme potentiel expliquant le rôle des cations dans la biofloculation des boues activées pour la première fois par Tezuka (1969). Selon cette théorie, Ca^{2+} et Mg^{2+} adhèrent aux sites anioniques et sont dès lors les cations critiques pour la formation de la structure matricielle extracellulaire servant à l'aggrégation des floccs bactériens. D'autres études récentes (Higgins and Novak, 1997; Sobeck and Higgins, 2002) sont venues supporter cette théorie et mettre en évidence le fait que l'addition de cations monovalents Na^+ et K^+ résultait en la mise en solution de Ca^{2+} et Mg^{2+} et la détérioration des propriétés de décantation et de déshydratation des boues. Higgins and Novak (1997) proposaient le ratio cations monovalents/cations divalents (M/D) comme indicateur des caractéristiques des boues. Selon ces auteurs, un ratio $\text{M/D} > 2$ (eq/eq) est associé à de mauvaises propriétés de décantation et de déshydratation.

2.1.2.4 Aluminium et EPS

Considérant la valence élevée et la faible solubilité de l'aluminium, il est considéré comme un élément potentiel pour lier les EPS aux bio-agrégats. Une étude récente (Park et al., 2006b) ayant investigué le rôle de l'aluminium dans la biofloculation a montré que plus les floccs bactériens contenaient de l'aluminium plus la qualité de l'effluent était meilleure dans plusieurs stations

d'épuration. Il a été rapporté dans (Masion et al., 2000; Vilge-Ritter et al., 1999) que les polysaccharides trouvés dans les lacs et les rivières avaient tendance à coaguler préférentiellement avec des sels d'aluminium. Ces résultats rejoignent bien l'étude de Park et al. (2006a) qui montrait que la dose optimale d'alun utilisée pour conditionner des boues activées issues de plusieurs stations d'épuration était très dépendante de la concentration des polysaccharides solubles dans chaque échantillon. Dans le même sens, il a été montré dans (Murthy et al., 2000) que la coagulation des polysaccharides colloïdaux résultant d'une digestion aérobie auto-thermale thermophile se faisait mieux avec l'ajout d'alun qu'avec du chlorure ferrique. Un enlèvement plus sélectif de polysaccharides solubles par rapport aux protéines a été enregistré dans (Holbrook et al., 2005) lorsque de l'alun était ajouté aux boues activées dans un système de bioréacteur à membranes submergées. Ces études semblent confirmer une certaine affinité entre l'aluminium et les polysaccharides. Cependant, une étude récente (Takaara et al., 2007) révélait une réactivité entre l'aluminium et des protéines provenant de *cyanobacteria Microcystis aeruginosa*. Ceci laisse penser que l'aluminium puisse avoir une affinité également à des EPS de type protéique. Concernant l'effet de l'aluminium sur l'efficacité d'une digestion anaérobie, une étude récente (Novak and Park, 2010) vient indiquer que l'addition d'aluminium résulte en une réduction légère de l'efficacité d'enlèvement des VSS mais contribue par contre à la réduction des odeurs.

2.1.2.5 Fer et EPS

Dans les systèmes de boues activées, le fer intervient dans le transport d'électrons et de protéines. Il est un composant d'enzymes et de coenzymes : cytochromes, catalases, peroxydases, protéines avec fer et soufre, oxygénases et toutes les nitrogénases (Horan and Mara, 2003; Madigan et al., 2003). Dans les systèmes de boues activées, l'importance du fer se doit particulièrement à ses caractéristiques d'oxydoréduction. La réduction du fer dans ces systèmes tant par des bactéries Fe-réductrices *Shewanella alga* (Caccavo et al., 1996; Caccavo et al., 1997) que par addition de sulfures (Nielsen et al., 1996) conduisait à une augmentation de la turbidité due à la génération de colloïdes organiques plutôt que de cellules libres, accompagnée d'une détérioration de la déshydratation. Ces études concluaient que le fer en état oxydé jouait un rôle primordial quant à la stabilité des floccs bactériens, rôle qui était supposé prévalant à celui de Ca^{2+} et Mg^{2+} . Il a été rapporté également dans deux autres études (Rasmussen et al., 1994; Rasmussen and Nielsen,

1996) que Fe^{3+} favorisait la floculation mieux que Fe^{2+} . En la lumière de ces constatations, les mécanismes de destruction des floccs bactériens durant la digestion anaérobie ont été présentés dans deux études (Novak et al., 2007; Novak et al., 2003). Le premier mécanisme à considérer était la réduction du fer qui causait la défloculation des boues activées. Une autre étude récente (Park et al., 2006a) réalisée par la même équipe montrait que les boues activées renfermant une teneur élevée en fer (associé aux floccs) avait un taux d'enlèvement de VSS plus important par digestion anaérobie. Dans ces études, les auteurs ont rapporté que l'élément Fe^{3+} manifestait une certaine sélectivité vis-à-vis des protéines. En effet, les doses optimales de FeCl_3 pour le conditionnement d'une série d'échantillons de boues activées de différentes origines dépendaient principalement de la quantité de protéines solubles dans ces boues. De même, et en digestion aérobie auto-thermale thermophile, il a été démontré que les sels de Fe^{3+} coagulaient les protéines résultant de cette digestion (Abu-Orf et al., 2001; Murthy et al., 2000).

2.1.2.6 Agrégation de bactéries par adhésines

Les adhésines sont des molécules qui permettent aux bactéries d'adhérer aux surfaces environnantes (autres cellules ou support) et jouent dès lors un rôle important dans l'agrégation des bactéries et la formation de biofilms (Madigan et al., 2003). La nature des adhésines varie énormément selon les bactéries : protéines filamenteuses telles que les *fimbriae* ou encore des polysaccharides gluants telles que les alginates. Les bactéries ont aussi recours à d'autres formes d'adhésines appelées ligands spécifiques qui sont des macromolécules leur permettant de rentrer en interaction moyennant un récepteur localisé sur des cellules hôtes (Touhami et al., 2003; Imberty et al., 2004). Les lectines présentent un exemple typique d'adhésines produites par les cellules pour ce type de communication.

- ***Fimbriae***

Les bactéries sont dotées d'organelles de surface appelées *fimbriae* qui servent à différentes fonctions, comme la reconnaissance et l'adhésion sur des surfaces diverses et en particulier sur les cellules des organismes eucaryotes (Cioci, 2006). Les *fimbriae*, aussi appelées *pili*, sont des protéines filamenteuses trouvées généralement sur les surfaces des bactéries à Gram négatif (Madigan et al., 2003). Ces organelles sont supposées jouer un rôle crucial dans la biofloculation (Cioci, 2006).

- ***Alginates***

Ce sont des polysaccharides linéaires non ramifiées consistant en une répétition de deux monosaccharides : 1,4-linked α -L-guluronic acid et β -D-mannuronic acid (Christensen, 1999; Davies, 1999). Les carboxylates de ces polysaccharides acides peuvent facilement se lier aux cations conduisant à une structure gélatineuse (Lattner et al., 2003). Une étude portant sur les alginates a montré que l'ajout de Na^+ , K^+ et Mg^{2+} résultait en une extraction de Ca^{2+} et une détérioration de la filtrabilité des boues alors que l'ajout de Cu^{2+} améliorait cette filtrabilité (Bruus et al., 1992). Une étude subséquente (Lattner et al., 2003) a démontré une certaine sélectivité des alginates pour les deux cations Ca^{2+} et Cu^{2+} . Cependant, d'autres auteurs (Sobeck and Higgins, 2002) ont accordé moins d'importance pour les alginates dans les boues activées suite à des essais sur des systèmes de boues activées alimentés aussi bien avec Ca^{2+} qu'avec Mg^{2+} ayant conduit à des boues de mêmes propriétés. Les alginates restent quand même un facteur potentiel dans la biofloculation.

- ***Lectines***

Les lectines sont des récepteurs spécifiques, non enzymatiques, pour les interactions protéine-polysaccharide qui jouent des rôles clés dans une multitude de processus de reconnaissance moléculaire et de signalisation cellulaire (Cioci, 2006). Elles permettent, entre autres, de favoriser l'attachement des cellules bactériens et la formation de biofilms (Imberty et al., 2004; Loris et al., 2003) via des reconnaissances moléculaires spécifiques (sucres) qui aident dans l'interaction directe ou indirecte des cations divalents (Imberty et al., 2004; Weis and Drickamer, 1996).

Des essais réalisés par Higgins and Novak (1997) portant sur une digestion enzymatique des boues avec inhibition des liaisons avec les carbohydrates ont montré que les boues activées possèdent une activité lectine. Ces auteurs ont proposé que des lectines liées à des polysaccharides et rapprochées par des cations divalents soient à la base du réseau d'EPS liant les floes bactériens.

- ***Autres adhésines***

D'autres adhésines relativement peu documentées pour les systèmes de boues activées méritent également être citées dans cette revue de littérature, à savoir : l'hémagglutinine protéase du *Vibrio cholerae* (Hase and Finkelstein, 1991) et les protéines de la membrane externe (*outer membrane proteins (porins)*) appartenant à plusieurs bactéries à Gram négatif (Peck et al., 1999).

2.1.2.7 Extraction des EPS

L'extraction des EPS a été étudiée par plusieurs auteurs et les méthodes qui y sont impliquées ont été comparées (Azeredo et al., 1998; Bura et al., 1998; Frolund et al., 1996; Liu and Fang, 2002; Ras et al., 2008). Des méthodes telles que l'extraction par résine échangeuse de cations (CER), l'extraction basique (NaOH), l'extraction au formaldéhyde, l'extraction aux sulfures, l'extraction au Triton-X 100 et l'extraction thermique ont été recensées dans ces études. Selon Frolund et al. (1995), l'extraction par CER est la plus efficace avec moins de lyse cellulaire. Dans une autre étude (Liu and Fang, 2002) comparant l'efficacité d'extractions, il a été rapporté que l'extraction au formaldéhyde était plus efficace que celle basée sur la CER ou encore à l'EDTA.

Cette situation controversée quant à l'efficacité de ces méthodes d'extraction laisse penser qu'à chaque méthode d'extraction est associé préférentiellement un type d'EPS. En effet, les EPS sont composées d'un spectre très varié de substances organiques, principalement des protéines et des polysaccharides et sont préférentiellement liées à des cations spécifiques. Les méthodes sont, à cet effet, assez sélectives pour les EPS à extraire mais aussi pour les cations à mettre en solution. Certains auteurs combinaient plusieurs méthodes pour améliorer le rendement d'extraction des EPS (Park et al., 2008). Dans cette étude, la CER s'est montrée assez sélective aux EPS liées aux Ca^{2+} et Mg^{2+} et l'extraction aux sulfures pour les EPS liées au fer. L'extraction des protéines au Triton X-100 a montré un rendement très élevé comparée à d'autres méthodes d'extraction par sonication, CER, Ultraturax et par des combinaisons de ces méthodes (Ras et al., 2008).

2.1.3 Conclusions : Composition des VSS des boues activées

La matrice des VSS des boues activées est composée de floccs bactériens qui sont des entités biologiques formées de bactéries (composantes actives) et de composantes inactives (X_E , $X_{U,Inf}$ et X_{Ig}). L'adhérence de ces composantes se doit à des substances polymériques extracellulaires. Les EPS sont composées principalement de protéines et de polysaccharides et leur extraction semblent cependant dépendre des méthodes d'extraction utilisées. La stabilité de la matrice des VSS est principalement assurée par des cations di et trivalents (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} et Al^{3+}) mais aussi par des adhésines. Le mode de digestion (aérobie, anaérobie) des solides volatiles composant les boues activées semble conditionner le type et la quantité de cations solubilisés après digestion.

2.2 Mécanismes de production de boues dans les systèmes de boues activées

2.2.1 Processus microbiens influençant la production de boues

Indépendamment de la nature et de la complexité de la flore épuratrice présente dans un système de boues activées, il existe un ensemble de processus biochimiques prépondérants qui gouvernent son évolution temporelle et qui définissent également la production de boues en excès.

2.2.1.1 Croissance de la biomasse, utilisation de substrat et rendement cellulaire

Dans le traitement biologique, la croissance cellulaire se fait parallèlement à la consommation (oxydation) de la matière organique et/ou inorganique (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003). Ceci permet de définir le rendement cellulaire net, noté Y (*biomass yield*), typiquement calculé par rapport au donneur d'électron (substrat) par l'équation 2.1.

$$Y = \frac{\text{g de biomasse produite}}{\text{g de substrat utilisé consommé}} \quad (2.1)$$

Les paramètres qui peuvent exprimer la croissance de la biomasse sont : VSS, COD particulaire, contenu en protéines, DNA et ATP (élément responsable du transfert d'énergie). Parmi ces paramètres, la mesure des VSS est souvent utilisée pour le suivi de l'évolution de la biomasse pour sa simplicité et sa rapidité (Metcalf & Eddy, 2003). Le Tableau 2.5 donne les rendements de synthèse typiques de la biomasse selon le type de donneur et d'accepteur d'électrons utilisés dans le traitement des eaux usées (Metcalf & Eddy, 2003).

Tableau 2.5 - Rendements de synthèse typiques dans le traitement des eaux usées

Conditions de croissance	Donneur d'électrons	Accepteur d'électrons	Rendement de synthèse
Aérobie	Matière organique	Oxygène	0.40 g VSS/g COD
Aérobie	Azote ammoniacal	Oxygène	0.12 g VSS/g NH ₄ -N
Anoxie	Matière organique	Nitrate	0.40 g VSS/g COD
Anaérobie	Matière organique	Matière organique	0.40 g VSS/g COD
Anaérobie	Acétate	Dioxyde de carbone	0.40 g VSS/g COD

En général, il y a lieu d'utiliser le coefficient de synthèse observé (Y_{obs}) qui est inférieur au coefficient de synthèse net décrit précédemment. Le Y_{obs} tient compte de la dégradation de la biomasse par respiration endogène et dépend ainsi du SRT mais aussi de $X_{\text{U,Inf}}$ (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003).

2.2.1.2 Maintenance, métabolisme endogène, lyse, croissance cryptique et prédation

La dégradation de la biomasse peut se traduire dans un système de boues activées par un résultat apparent de 4 mécanismes distincts: la respiration endogène, la croissance cryptique, la lyse cellulaire et la prédation des bactéries par des microorganismes eucaryotes (van Loosdrecht and Henze, 1999).

- **Maintenance**

La biomasse a des besoins énergétiques autres que ceux déployés pour la synthèse cellulaire. Ces besoins sont communément regroupés sous le terme énergie de maintenance (Grady et al., 1999; Russell and Cook, 1995; van Loosdrecht and Henze, 1999). En effet, des processus cellulaires mécaniques et chimiques sont mis en jeu par les microorganismes et requièrent un supplément d'énergie pour assurer leur performance. Les processus mécaniques comportent la motilité intracellulaire (faculté à développer des mouvements), la régulation osmotique, le transport moléculaire, le maintien du gradient ionique à travers la membrane cellulaire et dans le cas de quelques microorganismes eucaryotes, le flux cytoplasmique. Quant aux processus chimiques, il s'agit principalement de la restructuration de la membrane cellulaire et de flagelles et de la maintenance de l'appareil catabolique (Grady et al., 1999; Russell and Cook, 1995; Witzig et al., 2002). Par ailleurs, la restructuration des protéines et des acides nucléiques, étudiée chez *E. Coli*, a montré un besoin très important en énergie de maintenance (Grady et al., 1999), ce qui généralise encore ce concept.

- **Métabolisme endogène, lyse et croissance cryptique**

Les microorganismes ont la faculté de stocker du substrat exogène qui se transforme ainsi en réserves intracellulaires (glycogène, poly- β -hydroxybutyrate PHB). En l'absence d'un substrat exogène, l'énergie disponible aux microorganismes devient de plus en plus insuffisante pour assurer à la fois les besoins de croissance et de maintenance, les microorganismes, utilisent d'abord leurs réserves intracellulaires (premier substrat endogène), avant de passer au substrat

purement endogène (protéines, acides aminés), ce qui se traduit ultimement par un éclatement de la membrane cellulaire (lyse) et génération de sous-produits métaboliques. Lorsque les microorganismes utilisent les métabolites résultant de la lyse de cellules autres que les leurs, il y a lieu d'assister à une croissance dite cryptique ou régénération.

Au niveau d'un système de boues activées, quand la charge organique (F/M, *food to microorganisms*) est élevée, le substrat consommé est exogène et peut être incorporé en partie dans la biomasse et une autre partie est oxydée par respiration pour fournir l'énergie nécessaire à la biosynthèse et à la maintenance. Par contre, lorsque la charge organique devient insuffisante (faible F/M), le substrat utilisé provient aussi de la biomasse elle-même (respiration endogène, lyse et croissance cryptique) et sert en priorité à subvenir aux besoins énergétiques liés à la maintenance (Low and Chase, 1999a,b; Russell and Cook, 1995; Wei et al., 2003).

- **Prédation**

La prédation des bactéries dont la présence est majoritaire dans les systèmes de boues activées par des microorganismes supérieurs tels que les protozoaires et les métazoaires constitue une forme de dégradation de la biomasse. En effet, ce processus est accompagné d'une perte d'énergie lorsqu'elle subit un transfert d'un niveau trophique inférieur à un autre supérieur (Gerardi, 2006; Luxmy et al., 2001; Wei et al., 2003). Cet aspect a été testé pour voir l'effet sur la dégradation de la biomasse (Lee and Welander, 1996a,b). L'expérience se déroulait dans un bioréacteur à deux étages, le deuxième compartiment ayant un long SRT pour y assurer le développement de protozoaires et métazoaires, le substrat y était relativement faible. Ce deuxième étage résultait en une faible production de biomasse.

2.2.1.3 Formation de produits microbiens solubles

Il existe deux sources principales pour la génération des produits microbiens solubles (SMP) selon les processus qui leur donnent naissance. La première source est liée à la croissance de la biomasse et l'utilisation du substrat exogène et la seconde résulte de la dégradation et la lyse de la biomasse, processus qui sont accompagnés d'un relargage de produits microbiens intracellulaires mais aussi d'une solubilisation de composés cellulaires particuliers. Peu d'informations est disponible quant aux caractéristiques de ces deux types de SMP. Ils sont supposés biodégradables quoique les uns le soient à des cinétiques très lentes (Grady et al., 1999).

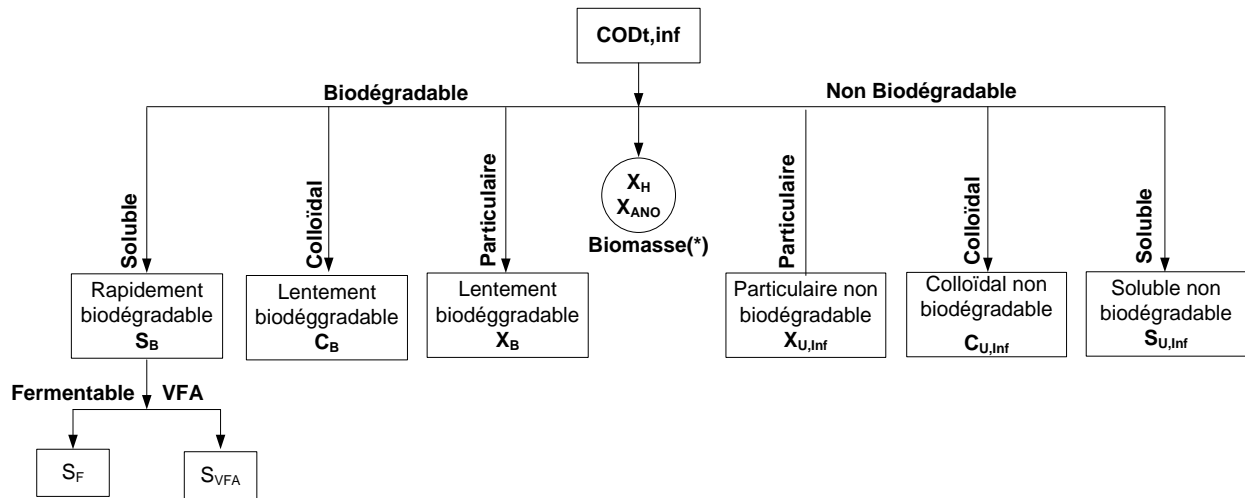
2.2.1.4 Solubilisation de la matière organique particulaire

Les bactéries ont la faculté de dégrader la matière organique à l'état soluble ayant un faible poids moléculaire. La matière particulaire biodégradable nécessite une solubilisation avant qu'elle soit accessible à la biomasse. En effet, des enzymes extracellulaires sont secrétées par les bactéries permettant de réduire la taille des particules en molécules de faibles poids capables de traverser les membranes cellulaires. Plusieurs biopolymères d'origine microbienne tels que les constituants des parois cellulaires, les protéines et les acides nucléiques sont composés de liaisons qui sont facilement cassées par les bactéries. Le processus mis en jeu est connu sous le terme d'hydrolyse (Eastman, 1977; Grady et al., 1999). Celui-ci est présent dans les systèmes de boues activées opérés dans des conditions aussi bien aérobies qu'anaérobies.

2.2.2 Formalisme mathématique des processus de production de boues

2.2.2.1 Caractérisation des eaux usées, éléments de fractionnement

La caractérisation des eaux usées est une étape très importante dans l'étude, la conception et la modélisation des systèmes de boues activées. Outre la détermination des matières solides (TSS, VSS), les composés carbonés (COD, BOD), azotés (NO_x , NH_4 et TKN) et phosphorés (o-PO_4 et Pt) doivent être caractérisés (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003). Suite au développement des modèles mathématiques, la notion de fractionnement des eaux usées a été introduite. Les fractionnements populaires concernent les principaux éléments constituant la charge polluante des eaux usées à savoir : la COD, l'azote et le phosphore qui servent pour l'établissement des bilans de masse. L'établissement de tels fractionnements se base sur trois critères de catégorisation : chimique, physique et biologique. Chimiquement, la charge polluante des eaux usées est répartie en organique ou minérale. Sur le plan physique, elle est constituée en composés solubles, colloïdaux et particulaires. Finalement, ces composés peuvent se distinguer, selon leur caractère biologique, en fractions biodégradables ou non biodégradables. Les composés biodégradables peuvent être compartimentés en fractions rapidement biodégradables et celles lentement biodégradables. La Figure 2.1 illustre le fractionnement de la COD d'un affluent d'eaux usées basée sur la notation standardisée suggérée par Corominas et al. (2010).



(*) Dans un affluent réel, la biomasse nitrifiante X_{ANO} est souvent négligeable

Figure 2.1 - Fractionnement de la COD totale d'un affluent d'eaux usées

La COD de l'affluent est alors donnée par l'équation (2.2) :

$$COD_{t,inf} = S_B + C_B + X_B + S_{U,inf} + C_{U,inf} + X_{U,inf} + X_H \quad (2.2)$$

2.2.2.2 Formulation des principaux mécanismes de production de boues

- **Croissance de la biomasse**

La croissance de la biomasse hétérotrophe est décrite par une cinétique de Monod d'ordre 1 par rapport à X_H (Dold et al., 1980; Metcalf & Eddy, 2003). Elle est limitée par la disponibilité du substrat rapidement biodégradable S_B tel que le décrit l'équation (2.3).

$$r_{X_H} = \frac{dX_H}{dt} = \mu_{max} * \frac{S_B}{K_S + S_B} * X_H \quad (2.3)$$

où :

r_{X_H} : Taux de croissance de la biomasse hétérotrophe (g VSS/L/d)

μ_{max} : Taux de croissance maximal (g COD/g COD/d)

S_B : Substrat rapidement biodégradable (g COD/L)

K_S : Constante de demi-saturation (g COD/L)

X_H : Biomasse hétérotrophe (mg COD/L)

- **Hydrolyse du substrat lentement biodégradable X_B**

La cinétique de l'hydrolyse s'exprime selon l'équation (2.4) (Dold et al., 1980).

$$\frac{dX_B}{dt} = -k_H * \frac{\frac{X_B}{X_H}}{K_X + \frac{X_B}{X_H}} * X_H \quad (2.4)$$

où :

k_H : Coefficient d'hydrolyse (g COD/g COD/d)

K_X : Constante de demi-saturation spécifique (g COD/g COD)

X_B : Substrat lentement biodégradable (hydrolysable) (g COD/L)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

Selon l'importance du terme $\frac{X_B}{X_H}$ par rapport à K_X , l'équation (2.4) peut prendre l'une ou l'autre des deux formes regroupées dans l'équation (2.5).

$$\frac{dX_B}{dt} = \begin{cases} -k_H * X_H & \text{si } X_B \gg X_H \\ -k_H * X_B & \text{si } X_B \ll X_H \end{cases} \quad (2.5)$$

Dans les systèmes de boues activées, la concentration en substrat lentement biodégradable est inférieure à celle de la biomasse. La deuxième formule de l'équation (2.5) décrit au mieux la cinétique d'hydrolyse de X_B .

- **Maintenance**

Pirt (1965) a été le premier à introduire une formulation pour le concept de maintenance. L'équation (2.6) présente le formalisme mathématique de Pirt qui tient compte de l'énergie de maintenance dans l'expression du rendement de synthèse observé de la biomasse.

$$\frac{1}{Y_{obs}} = \frac{1}{Y_H} + \frac{m_s}{\mu} \quad (2.6)$$

où :

Y_{obs} : rendement de synthèse observé de la biomasse (g VSS/g COD)

Y_H : rendement de croissance maximal de la biomasse (g VSS/g COD)

m_S : taux spécifique d'utilisation du substrat pour la maintenance (g COD/g VSS/d)

μ : taux spécifique de croissance de la biomasse (g VSS/g VSS/d)

• Dégradation de la biomasse

Tel qu'il a été abordé qualitativement à la section 2.2.1.2, le concept de dégradation de la biomasse regroupe les quatre mécanismes suivants : le métabolisme endogène, la lyse cellulaire, la croissance cryptique et la prédation. Dans la littérature examinée, il n'existe pas de formulation mathématique spécifique à chaque mécanisme. Cependant, la façon la plus simple était de les regrouper sous un même mécanisme décrivant la cinétique de dégradation de la biomasse (*decay*). À cet effet, deux modèles différents en formalisme mais équivalents en résultats, ont été introduits pour décrire cette dégradation (Dold *et al.*, 1980): le modèle de respiration endogène (*endogenous respiration*) et le modèle de mort-régénération (*death-regeneration*). Les deux approches ont présenté cette dégradation par une cinétique de premier ordre par rapport à la biomasse X_H tel qu'il est indiqué par l'équation (2.7). Toutefois, le modèle de mort-génération inclut des processus conduisant à la régénération de la biomasse à partir des sous-produits de la lyse cellulaire.

$$\frac{dX_H}{dt} = -b_H * X_H \quad (2.7)$$

où :

b_H : Coefficient de dégradation de la biomasse hétérotrophe (g COD/g COD/d)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

➤ *Modèle de respiration endogène*

Cette approche de dégradation de la biomasse, tel qu'elle est schématisée sur la Figure 2.2, est décrite par les équations (2.8), (2.9) et (2.10) (Dold et al., 1980).

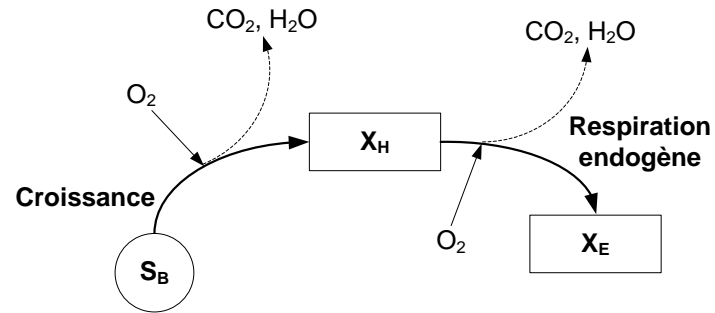


Figure 2.2 - Modèle de respiration endogène

○ **Dégradation de la biomasse active hétérotrophe X_H**

$$\frac{dX_H}{dt} = -b_H * X_H \quad (2.8)$$

où :

b_H : Taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Génération du résidu endogène X_E**

$$\frac{dX_E}{dt} = -f * \frac{dX_H}{dt} = f * b_H * X_H \quad (2.9)$$

où :

f : Fraction de la biomasse qui s'accumule en tant que résidu endogène (g COD/g COD)

b_H : Taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_E : Résidu endogène (g COD/L)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Utilisation d'oxygène pour la respiration endogène**

$$\text{OUR}_E = -\frac{d\text{O}_2}{dt} = (1-f) * b_H * X_H \quad (2.10)$$

où :

OUR_E : Taux d'utilisation d'oxygène pour la respiration endogène (g O₂/L/d)

f : Fraction de la biomasse qui s'accumule en tant que résidu endogène (g COD/g COD)

b_H : Taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

➤ **Modèle de mort-régénération**

Le modèle de mort-régénération (Figure 2.3) fait intervenir la notion de croissance cryptique de la biomasse sur les sous-produits métaboliques. En effet, la lyse cellulaire de X_H est supposée produire un substrat lentement biodégradable X_B et un résidu endogène X_E . La fraction X_B se transforme par hydrolyse en substrat soluble rapidement biodégradable (S_B) servant à la régénération d'une fraction de la biomasse hétérotrophe X_H . Les équations de (2.11) à (2.15) décrivent ce cycle ainsi que le taux d'utilisation d'oxygène (Dold et al., 1980).

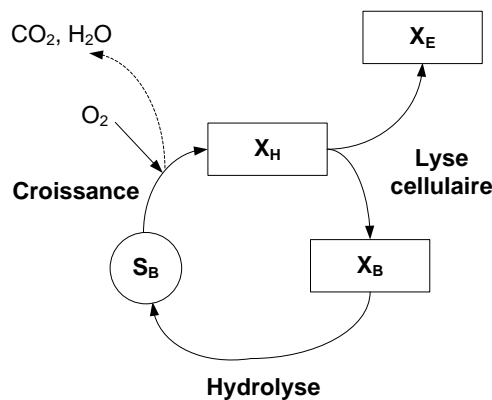


Figure 2.3 - Modèle de mort-régénération

○ **Dégradation de la biomasse active X_H**

$$\frac{dX_H}{dt} = -b_H' * X_H \quad (2.11)$$

où :

b_H' : taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Génération du résidu endogène X_E**

$$\frac{dX_E}{dt} = -f' * \frac{dX_H}{dt} = f' * b_H' * X_H \quad (2.12)$$

où :

f' : fraction de la biomasse qui s'accumule en tant que résidu endogène (g COD/g COD)

b_H' : taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_E : résidu endogène (g COD/L)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Génération du substrat lentement biodégradable X_B**

$$\frac{dX_B}{dt} = (1 - f') * b_H' * X_H \quad (2.13)$$

où :

f' : fraction de la biomasse qui s'accumule en tant que résidu endogène (g COD/g COD)

b_H' : Taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

X_B : Substrat lentement biodégradable (g COD/L)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Hydrolyse du X_B et génération du substrat rapidement biodégradable S_B**

$$\frac{dS_B}{dt} = k_H * \frac{\frac{X_S}{X_H}}{K_x + \frac{X_S}{X_H}} * X_H \quad (2.14)$$

où :

k_H : Coefficient d'hydrolyse (g COD/g COD/d)

K_X : Constante de demi-saturation spécifique (g COD/g COD)

X_B : Substrat lentement biodégradable (hydrolysable) (g COD/L)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

○ **Utilisation d'oxygène pour la régénération (croissance)**

$$OUR_R = -\frac{dO_2}{dt} = (1 - f') (1 - Y_H) * b_H' * X_H \quad (2.15)$$

où :

OUR_R : Taux d'utilisation d'oxygène pour la régénération (mg O_2 /L/d)

f' : Fraction de la biomasse qui s'accumule en tant que résidu endogène (g COD/g COD)

b_H' : Taux de respiration endogène (g COD/g COD/d)

Y_H : Rendement cellulaire maximal des hétérotrophes (g COD/ g COD)

X_H : Biomasse active hétérotrophe (g COD/L)

➤ **Équivalence entre les paramètres (b_H, f) et (b_H', f')**

Pour une même unité de COD soluble alimentée (S_B), le résidu endogène qui s'accumule selon les deux modèles (respiration endogène et mort-régénération) est le même (Dold et al., 1980). Ainsi, l'égalité entre les deux équations (2.9) et (2.12) permet de trouver une première relation entre les paramètres (b_H, f) et (b_H', f'). En exprimant l'égalité des taux d'utilisation d'oxygène dans les deux approches à travers les deux équations (2.10) et (2.15), une deuxième relation entre les deux couples de paramètres est obtenue. D'où le système d'équations à deux dimensions suivant (2.16):

$$\begin{cases} f * b_H = f' * b_H' \\ (1 - f) * b_H = (1 - f') * (1 - Y_H) * b_H' \end{cases} \quad (2.16)$$

Après réarrangement, le système (2.17) exprimant l'équivalence entre les paramètres des deux modèles est obtenu.

$$\begin{cases} f' = \frac{(1 - Y_H)}{(1 - Y_H * f)} * f \\ b_H' = \frac{(1 - Y_H * f)}{(1 - Y_H)} * b_H \end{cases} \quad (2.17)$$

Les valeurs les plus recommandées pour les paramètres b_H et f dans la littérature sont 0.24 d^{-1} (à 20°C) et 0.20 respectivement (Dold, 2007). D'autres valeurs de b_H et f sont suggérées dans d'autres références allant de 0.06 à 0.40 d^{-1} pour b_H et de 0.08 à 0.23 pour f (Henze et al. (2000); Kappeler and Gujer (1992) ; Mecalfe & Eddy (2003)). Cette différence laisse poser des questions quant au comportement de dégradation de la biomasse et la génération du résidu endogène qui en résulte. Ces paramètres vont être réévalués dans cette thèse pour des fins de modélisation et d'interprétation des résultats concernant la dégradation du X_E .

Par ailleurs, il a été montré que le taux de respiration endogène b_H est indépendant du SRT mais il varie avec la température. Une correction selon le principe de *Van't Hoff-Arrhenius* est nécessaire à cet effet selon l'équation (2.18).

$$b_H(T) = 0.24 * \theta^{(T-20)} \quad (2.18)$$

Une valeur de θ de 1.029 est utilisée dans les modèles mathématiques (Dold, 2007).

Pour les paramètres typiques du modèle de respiration endogènes ($b_H = 0.24 \text{ d}^{-1}$ et $f = 0.20$), les paramètres équivalents du modèle de mort-régénération b_H' et f' peuvent être évalués selon le système (2.17) en considérant une valeur du rendement cellulaire des hétérotrophes Y_H ($0.666 \text{ g COD/g COD}$ typiquement). Ceci conduit aux valeurs suivantes (2.19) :

$$\begin{cases} f' = 0.08 \\ b_H' = 0.63 \text{ d}^{-1} \end{cases} \quad (2.19)$$

2.2.2.3 Production de boues

Le schéma de la Figure 2.4 a été élaboré pour résumer le devenir de la charge polluante (organique et inorganique) d'un affluent d'eau usée. Ce schéma est basé sur le fractionnement de la COD et sur le modèle de mort-génération pour présenter la génération et la composition des boues dans le système. Afin d'illustrer le devenir de la matière inorganique, des fractions et subdivisions ont été ajoutées que ce soit à l'affluent ou dans les ISS formées. Il s'agit de :

- S_{Ig} : matière inorganique soluble ne subissant aucune transformation dans le système de boues activées (non utilisable biologiquement). Elle se trouve directement à l'effluent;
- X_{Ig} : matière inorganique particulaire ne subissant aucune transformation dans le système de boues activées (non utilisable biologiquement) qui se trouve incorporée dans la masse des boues produites;
- S_{IG} : matière inorganique soluble utilisable par la biomasse dans le système de boues activées. Celles-ci se trouvent dans la biomasse formée X_H mais probablement aussi dans le résidu endogène X_E sous forme d'ISS de synthèse (X_{IS}). Après hydrolyse de la biomasse, ces ISS sont réutilisées par la croissance de la biomasse ou s'échappent à l'effluent ;
- S_{IP} : matière inorganique soluble allant se précipiter dans le système de boues activées. Un excès en cette matière peut se trouver à l'effluent;
- X_{IP} : solides inorganiques résultant de la précipitation de S_{IP} dans le système de boues activées, constituent une faible fraction des ISS dans les boues générées ;

Les boues générées dans le système de la Figure 2.4, exprimées en termes de TSS, sont composées de fractions organiques (VSS) et inorganiques (ISS):

- Les fractions organiques sont constituées de : X_H , X_B (faible), X_U et X_E ;
- Les fractions inorganiques (ISS) sont constituées de: X_{Ig} , X_{IP} et X_{IS} .

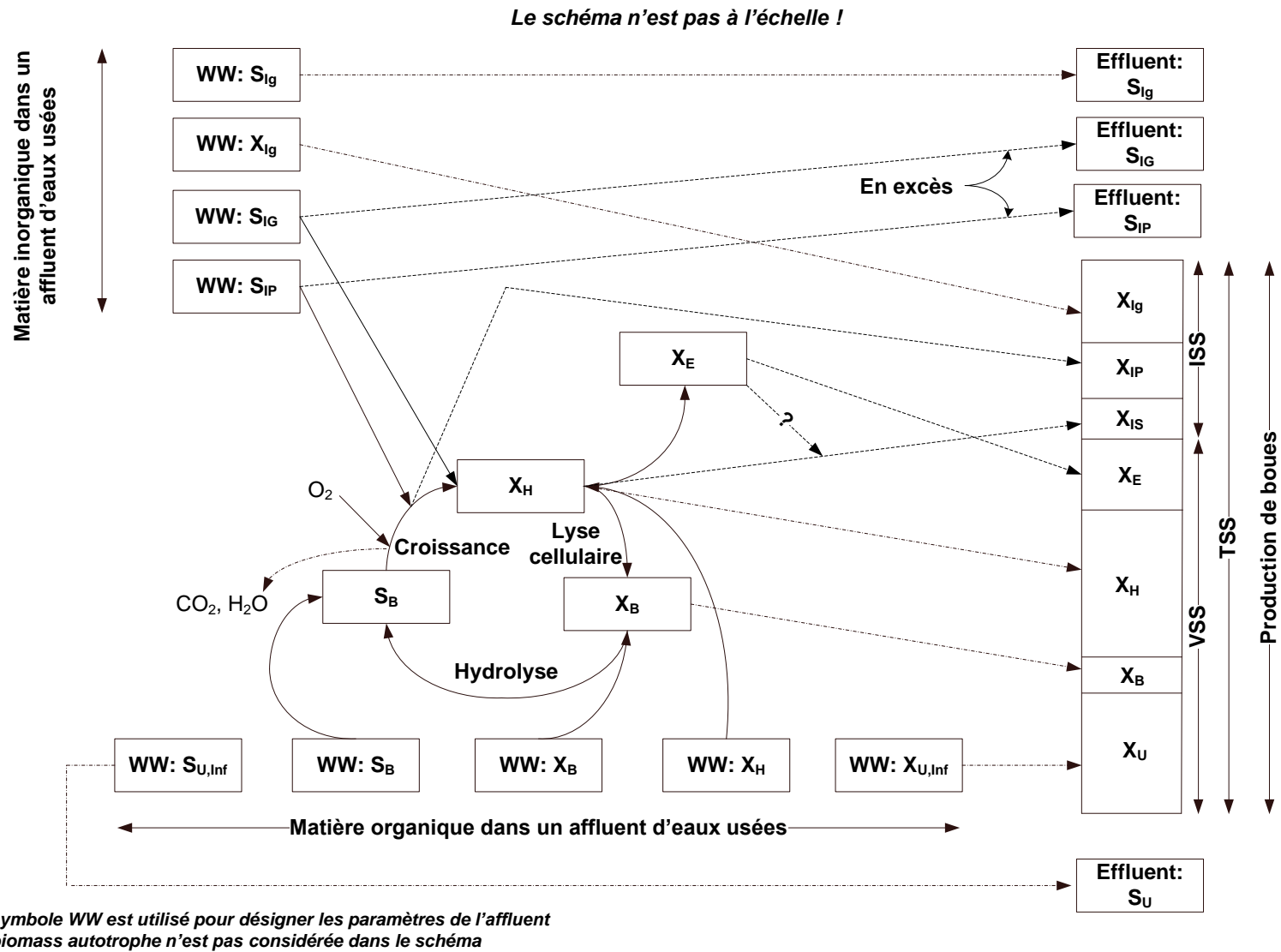


Figure 2.4 - Production de boues dans un système de boues activées

Pour un SRT donné, les principales composantes des boues activées sont déterminées par les équations (2.20) à (2.24). Dans ces équations, la masse produite en chaque composante est présentée par unité de COD totale d'affluent alimentée par jour (Dold, 2007):

○ Biomasse active X_H

La masse de biomasse hétérotrophe produite par unité de COD alimentée par jour est donnée par l'équation (2.20) :

$$\frac{MX_H}{PCOD_{Inf}} = (1 - f_{US} - f_{UC} - f_{UP}) * \frac{Y_H * SRT}{b_H * SRT + 1} \quad (2.20)$$

où :

MX_H : Masse de biomasse hétérotrophe dans le système (g VSS);

$PCOD_{Inf}$: Charge de COD totale alimentée au système (g COD/d);

f_{US} : Fraction de COD soluble non biodégradable à l'affluent (-);

f_{UC} : Fraction de COD colloïdale non biodégradable à l'affluent (-);

f_{UP} : Fraction de COD particulaire non biodégradable à l'affluent (-);

Y_H : Rendement de la biomasse hétérotrophe (g VSS/g COD);

SRT : Temps de rétention de boues (d);

Y_H : Rendement de la biomasse hétérotrophe (g VSS/g COD);

b_H : Taux de respiration endogène de la biomasse hétérotrophe (d^{-1});

○ Résidu endogène X_E

La masse du résidu endogène générée dans le système est proportionnelle à celle de la biomasse hétérotrophe par le facteur $f * b_H * SRT$. Ceci est exprimé par l'équation (2.21) :

$$\frac{MX_E}{PCOD_{Inf}} = (1 - f_{US} - f_{UC} - f_{UP}) * f * b_H * SRT * \frac{Y_H * SRT}{b_H * SRT + 1} \quad (2.21)$$

où :

MX_E : Masse de résidu endogène dans le système (g VSS);

Les autres paramètres ont été définis précédemment.

- Fraction organique non biodégradable de l'affluent X_U

La masse de la matière particulaire non biodégradable acheminée par l'affluent $X_{U,Inf}$ ne dépend que du SRT et de sa concentration à l'affluent. Elle est donnée par la formule (2.22) :

$$\frac{MX_U}{PCOD_{Inf}} = \frac{f_{UP}}{F_{CV,P}} * SRT \quad (2.22)$$

où :

MX_U : Masse de la composante particulaire dans le système (g VSS);

f_{UP} : Fraction de COD particulaire non biodégradable à l'affluent (-);

$F_{CV,P}$: Ratio COD/VSS pour la composante X_U (g COD/g VSS).

- Fraction inorganique non biodégradable de l'affluent X_{Ig}

La masse de la fraction inorganique non biodégradable de l'affluent s'accumule dans le système en fonction du SRT et de sa concentration à l'affluent. Elle est donnée par l'équation (2.23) :

$$\frac{MX_{Ig}}{PCOD_{Inf}} = \frac{MX_{Ig,0}}{PCOD_{Inf}} * SRT \quad (2.23)$$

où :

MX_{Ig} : Masse de la composante inorganique non biodégradable dans le système (g ISS);

$MX_{Ig,0}$: Masse de la composante inorganique non biodégradable alimentée au système (g ISS/d).

- ISS de synthèse

Pour les ISS de synthèse, l'équation (2.24) n'existe pas dans (Dold, 2007). Elle a été établie en considérant des contenus en ISS pour la biomasse hétérotrophe et le résidu endogène ($F_{ISS,H}$ et $F_{ISS,E}$ respectivement).

$$\frac{MX_{IS}}{PCOD_{Inf}} = (1 - f_{US} - f_{UC} - f_{UP}) * \frac{Y_H * SRT}{b_H * SRT + 1} (F_{ISS,H} + F_{ISS,E} * f * b_H * SRT) \quad (2.24)$$

Afin d'illustrer la répartition de ces fraction organiques et inorganiques et leur contribution dans la production des boues, le schéma de la Figure 2.5 a été établi sur une large plage de SRT (1 à 50 d). Pour tracer ce graphique, des valeurs typiques pour les paramètres Y_H , f_{US} , f_{UP} , $F_{CV,P}$, $F_{ISS,H}$ et $F_{ISS,E}$ ont été adoptés de BioWin® (EnviroSim, 2010). Des concentrations typiques de COD et de X_{Ig} à l'affluent de 600 mg COD/L et de 55 mg ISS/L ont été adoptées de Dold (2007). Pour la fraction colloïdale non biodégradable à l'affluent (F_{UC}), elle n'est pas considérée dans BioWin® (supposée négligeable) ni dans la littérature, sa valeur a été choisie arbitrairement à 2% (0.02). Le Tableau 2.6 résume l'ensemble des paramètres ayant servi à l'établissement de la Figure 2.5.

Tableau 2.6 - Paramètres biocinétiques et de caractérisation d'un affluent brut d'eau usée

Paramètres cinétiques et stœchiométriques		
Paramètre	unité	Valeur typique
Y_H	g VSS/g COD	0.47
b_H	d ⁻¹	0.24
f	-	0.20
$F_{CV,P}$	g COD/ g VSS	1.60
$F_{ISS,H}$	g ISS/ g X_H (as VSS)	0.08
$F_{ISS,E}$	g ISS/ g X_E (as VSS)	0.08
Caractéristiques des eaux usées		
Paramètre	unité	Valeur typique
f_{US}	-	0.05
f_{UC}	-	0.02
f_{UP}	-	0.13
X_{Ig}	mg ISS/L	55
COD_{inf}	mg COD/L	600

La figure 2.5 indique que les composantes considérées a priori non biodégradables (X_E , $X_{U,Inf}$ et X_{Ig}) deviennent prépondérantes pour des SRTs en excès de 20 d.

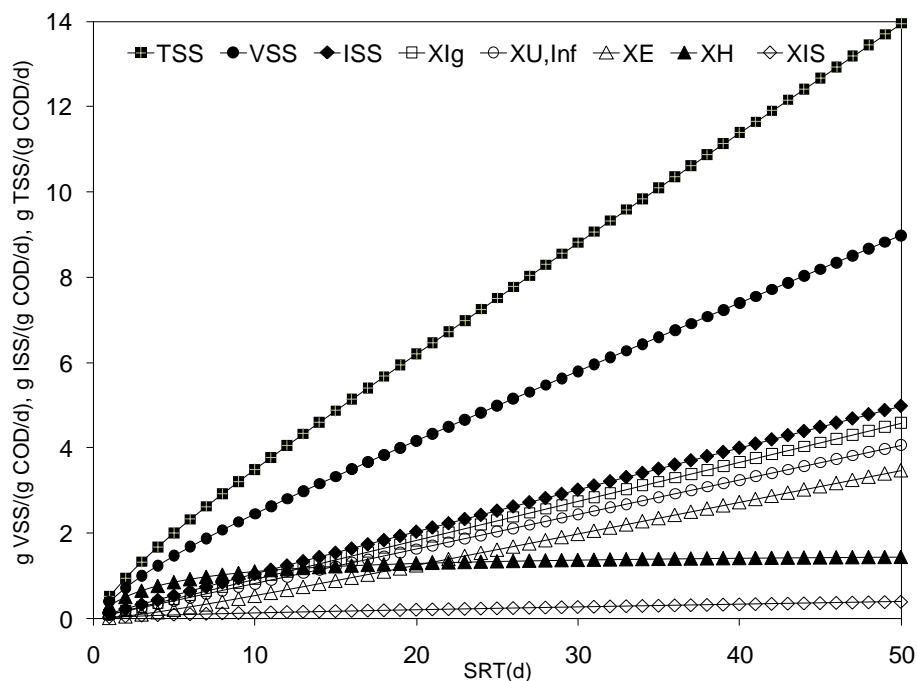


Figure 2.5 - Répartition des fractions composant les VSS, ISS et TSS dans un système de boues activées pour des SRTs dans la plage 1 à 50 d.

2.3 Aperçu sur les stratégies limitant la production de boues

Sur base des conclusions de la section précédente, les boues qui s'accumulent dans un système de boues activées sont réparties en 3 catégories :

- **Boues actives** qui correspondent à la croissance de la biomasse hétérotrophe (et autotrophe) dans le procédé de traitement biologique;
- **Boues inactives organiques** qui correspondent à l'accumulation des fractions organiques considérées non biodégradables dans le procédé biologique : $X_{U,Inf}$ et X_E ;
- **Boues inorganiques** qui désignent les boues résultant principalement de l'accumulation de matières inorganiques acheminées par l'affluent (X_{Ig}).

Il est évident que toutes les stratégies limitant la production de boues doivent passer forcément par une action sur les fractions inactives et inorganiques (X_E , $X_{U,Inf}$ et X_{Ig}).

Le projet de faible production de boues en bioréacteur à membranes, dirigé par le professeur Yves Comeau est axé sur l'étude des mécanismes permettant d'agir sur ces composantes pour les

réduire davantage. Ce projet de doctorat est consacré particulièrement à l'étude de la dégradation du résidu endogène.

2.3.1 Catégorisation des techniques de réduction de boues

Une revue de la littérature sur le thème «Réduction de la production de boues» a permis de distinguer entre deux familles de techniques (Liu and Tay, 2001; Mahmood and Elliott, 2006; Pérez-Elvira et al., 2006). La première famille vise à apporter des changements au mode opératoire du procédé de boues activées ou d'y intégrer des sous-traitements afin de réduire les quantités de boues qui y sont produites et purgées. La seconde famille s'intéresse à améliorer les traitements de boues générées dans ces systèmes (post-traitements), soit les quantités destinées au dépôt final. Les différentes approches investiguées sont basées sur des traitements biologiques purs, sur des traitements physiques ou chimiques, ou encore sur une combinaison de ces traitements. La Figure 2.6 adaptée de (Mahmood and Elliott, 2006) et améliorée, résume l'ensemble de ces techniques. Un détail sur ces technologies est présenté dans les paragraphes qui suivent. Il est à signaler que le procédé de bioréacteur à membranes (MBR), les techniques de digestion et d'ozonation de boues qui nous intéressent particulièrement dans ce projet, sont développées dans des sections séparées de cette thèse (2.2.4, 2.2.5 et 2.2.6 respectivement).

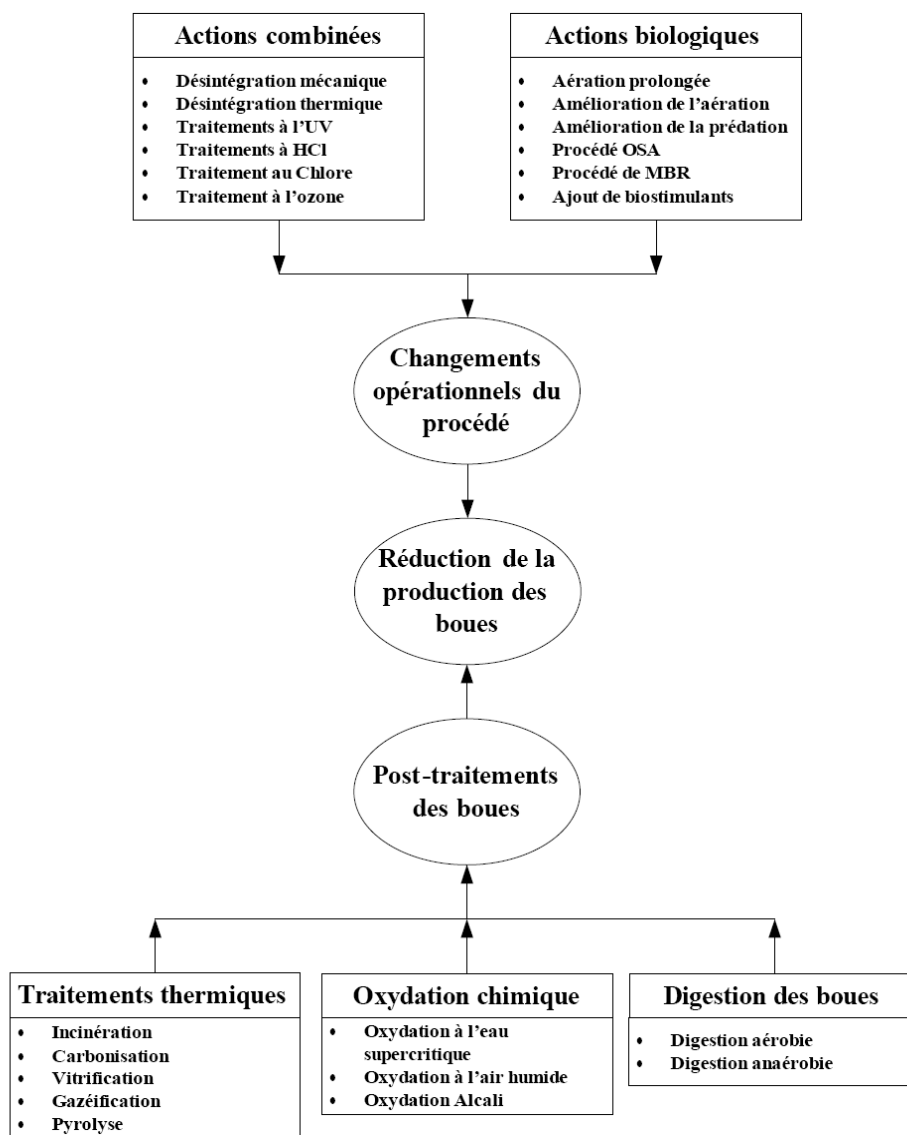


Figure 2.6 - Techniques de réduction de boues, adaptée de (Mahmood and Elliott, 2006) et améliorée

2.3.2 Changements opérationnels sur le procédé biologique

2.3.2.1 Actions biologiques

- **Aération prolongée**

Le procédé d'aération prolongée est similaire au procédé conventionnel de boues activées si ce n'est qu'il est opéré en phase de respiration endogène qui requiert une faible charge organique et une longue durée d'aération (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003). Pour ce procédé, les

SRT et HRT se situent dans les plages 20-40 d et 20-30 h respectivement. La charge organique est de 0.1 à 0.3 kg BOD₅/m³/d et le ratio F/M varie de 0.04 à 0.10 kg BOD₅/kg MLVSS/d (Metcalf & Eddy, 2003). La production de boues excédentaires dans ce procédé se fait selon un taux de 0.15 à 0.30 kg/ kg BOD₅ enlevé qui est inférieur au taux de 0.4 à 0.6 kg/ kg BOD₅ enlevé dans le procédé conventionnel (Corbitt, 1999). Les boues produites sont bien stabilisées avec un potentiel moindre d'odeur.

- **Amélioration de l'aération**

Il s'agit d'une action qui vise à améliorer le système d'aération et fournir un meilleur transfert d'oxygène surtout au niveau des gros flocs bactériens qui manifestent une haute résistance à ce transfert. Pour étudier l'effet de la concentration en O₂ sur la production de boues en excès, un modèle mathématique qui tient compte de la masse d'oxygène transférée au floc, des réactions biochimiques et de la respiration endogène a été développé et testé au laboratoire par Abbassi et al. (2000). Les résultats de l'étude montraient que l'augmentation de l'oxygène dissous dans la liqueur mixte améliore son transfert, effet expliqué par le fait que cette augmentation favorise la diffusion de l'oxygène au sein des flocs et élargit ainsi le volume *effectivement* aérobie de la liqueur mixte. Le modèle montre aussi que la concentration en substrat devient faible à l'intérieur des flocs, ce qui explique la faible croissance et l'augmentation des besoins en énergie de maintenance, soit une réduction des boues produites (Abbassi et al., 2000).

- **Amélioration de la prédation (procédé LSP[®])**

Cette action vise à intensifier le processus microbien de prédation qui est déjà présent dans les systèmes de boues activées. Pour ce faire, un procédé à deux étages est mis en œuvre : le premier opéré à un très faible SRT (3-5 h) et sans recirculation de boues, permet l'enlèvement de la BOD soluble et le développement de bactéries libres et de petits flocs dispersés, alors que le second opéré à un SRT élevé et avec limitation en substrat, conduit au développement d'une flore prédatrice (protozoaires et métazoaires) qui s'alimente sur la biomasse du premier étage (Lee and Welander, 1996b). En effet, la prédation est accompagnée d'une perte d'énergie lorsqu'elle subit un transfert d'un niveau trophique inférieur à un autre supérieur (Gerardi, 2006; Luxmy et al., 2001; Ratsak et al., 1994; Wei et al., 2003). L'utilisation d'un système de boues activées à deux niveaux trophiques résulte en une production de boues estimée au 1/3 de celle générée dans un

système conventionnel (Asselin et al., 2005; Stuart et al., 2000). L'introduction d'un second stage a permis d'avoir une réduction du taux de production des boues de 11 à 43% dans (Ratsak et al., 1994). Avec un second stage composé d'un biofilm, une réduction du taux de production de boues de 32 à 93% a été observée dans (Lee and Welander, 1996a,b).

- **Ajout de biostimulants**

L'introduction d'additifs biostimulants permet d'améliorer la biodégradation de la matière organique présente dans les systèmes de boues activées (Mahmood and Elliott, 2006). De tels produits, d'ailleurs brevetés et à compositions confidentielles, sont souvent des enzymes ou des nutriments stimulant l'activité métabolique des microorganismes (Miller et al., 1996). Ainsi, l'addition du para-nitrophénol pour découpler le cycle de phosphorylation (ADP-ATP) a permis de réduire la production de boues de 50% dans (Low et al., 2000).

- **Procédé OSA**

Le procédé *oxic-settling-anaerobic* (OSA) est une modification du procédé conventionnel de boues activées par introduction d'une zone anaérobie sur la ligne de recirculation des boues (Chen et al., 2003; Liu and Tay, 2001). Les microorganismes hétérotrophes sont capables de générer leur ATP à partir de substrat exogène disponible dans la zone aérée. En anaérobiose, et en l'absence d'une source de substrat, ils ne seront plus dans la mesure de produire cette ATP et seront même obligés de chercher leur source d'énergie dans leurs propres réserves en ATP. Une fois de retour en aérobiose, ces microorganismes auront des besoins imminents en énergie pour remplacer leurs réserves épuisées en ATP prioritairement à toute forme de biosynthèse. En fait, il y a un découplage métabolique entre le catabolisme et métabolisme qui s'établit dans cette alternance de conditions aérobies et anaérobies (Chudoba et al., 1992; Liu and Tay, 2001).

Chudoba and Capville (1991) et Chudoba et al. (1991) ont rapporté un taux de réduction de boues de 20 à 65% dans le procédé OSA et une nette amélioration dans la décantabilité des boues (faible SVI) par rapport au système conventionnel.

Le procédé OSA faisant alterner des conditions aérobies et anaérobies a été étudié et interprété en termes de variabilité du potentiel d'oxydoréduction (ORP) dans (Chen et al., 2001) et (Saby et al., 2003). Les résultats de la première étude ont montré que le taux de réduction des boues passe de 23 à 58 % lorsque l'ORP passe de +100 à -250 mV dans la zone anoxie (au lieu d'anaérobie). La

seconde étude quant à elle comparait le procédé OSA opéré à un potentiel ORP de -250 mV à deux autres techniques de réduction des boues, à savoir la chloration des boues et le découplage métabolique chimique à l'aide du *3,3',4',5-tetrachlorosalicylanilide (TCS)*. La réduction de la production de boues dans le procédé OSA était de l'ordre de 50%. La chloration à une dose de 0.066 g Cl₂ /g MLSS réduisait la production de boues de 60% avec une production de THMs inférieure à 200 ppb. Le découplage chimique au TSC à une dose 0.8 ppm permettait de réduire les boues excédentaires de 45%.

Dans une autre étude (Chen et al., 2003) essayant d'identifier les mécanismes responsables de la faible production de boues dans le procédé OSA, les auteurs ont conclu que le mécanisme de découplage métabolique n'est pas la raison de cette faible production de boues qu'ils ont plutôt associée à une dégradation de la biomasse en milieu anaérobie. Ce résultat a été expliqué par le fait que le taux de réduction de boues avait tendance d'augmenter lorsque le bassin anaérobie était opéré dans des conditions de plus en plus strictes (très faible ORP).

- **Procédé de MBR**

Ce procédé est repris avec plus de détails dans la section 2.4 de cette revue de littérature.

2.3.2.2 Actions non biologiques

- **Désintégration mécanique**

La désintégration mécanique a été étudiée au laboratoire pour évaluer son potentiel à désagréger les cellules bactériennes et de produire de la COD soluble (Springer et al., 1996). Différents moyens permettent de réaliser une telle désintégration à des températures de 30°C et 40°C : moulins (*KADY*) et disperseurs (*Cowles* et *IKA*). Le potentiel de ces équipements a été évalué dans cette étude. Les moulins *KADY* se sont montrés plus performants avec un taux de solubilisation de la COD allant de 31.8 à 43.5% pour un temps de traitement de 20 à 60 min. Pour comparer l'effet de l'intégration des moulins *KADY* dans la chaîne de traitement, une comparaison a été faite par rapport à une référence constituée d'un système conventionnel opéré dans des conditions similaires. La production de boues était de 0.33 kg TSS/ kg de BOD enlevé pour le système à moulins contre 0.75 kg TSS/ kg de BOD enlevé au niveau de la référence.

- **Traitement aux radiations UV**

L'effet d'exposition des boues à des radiations UV a été étudié par Smith (1971). Dans cette étude, une portion des boues de recirculation était acheminée vers une unité de biolyse pour être exposée à des irradiations UV pendant de très courtes durées. La technique permettait d'obtenir une réduction de la production des boues de 15 à 18% pour une exposition de 30 s (Elliott et al., 1999).

- **Désintégration thermique**

Similaire au procédé aux irradiations UV, la désintégration thermique a été utilisée par Smith (1973). L'unité de biolyse a été remplacée par une unité de désintégration thermique (T varie de 50 à 100°C). La technique a été appliquée en combinaison avec un procédé de MBR (Canales et al., 1994) résultant en une réduction de la production de boues. En effet, comparé à une unité témoin, le taux de production des boues passe de 0.35 à 0.30 g COD boues / g COD pour un traitement thermique de 0.03 h et de 0.42 à 0.17 g COD boues / g COD pour une durée de 0.10 h. Quant aux performances du traitement biologique, elles ne sont pas affectées par l'introduction de l'unité de désintégration thermique. Une réduction de près de 60% a été obtenue dans (Camacho et al., 2005) pour une température de traitement de 95°C, des temps de contact de 5 à 45 min et des fréquences de stress de 0.2 à 0.1 d⁻¹.

- **Traitement au chlore**

La chloration des boues biologiques constitue une alternative intéressante pour la réduction de la production de boues. L'introduction d'une zone de chloration dans un procédé de MBR a permis de montrer la faisabilité de la méthode et sa contribution à réduire la production de boues de près de 65 % par rapport à une unité référence sans chloration (Saby et al., 2002). Les boues ont été soutirées du bioréacteur aéré pour subir une chloration à une dose de 133 mg Cl₂/ g MLSS durant toute la période de l'étude (1 minute d'injection, suivie de 10 min de recirculation dans l'unité de chloration puis d'un retour au bioréacteur aéré). Les auteurs indiquaient que dans le cas d'un système de boues activées conventionnel, la décantabilité des boues pourrait être largement affectée par la chloration mais aussi les performances épuratoires : augmentation de la COD soluble et des SMP à l'effluent. C'est pour cette raison que l'étude a été réalisée dans un MBR plutôt pour surmonter efficacement ces problèmes.

2.3.3 Post-traitement des boues

2.3.3.1 Traitements thermiques

- **Incinération**

L'incinération est le post-traitement des boues le plus populaire. Elle permet l'évaporation complète de l'eau comprise dans les boues (y compris l'eau interstitielle) à hautes températures (600 °C) puis leur oxydation complète en CO₂ et H₂O. Ayant une demande élevée en énergie, cette technique est très coûteuse et pose quelques problèmes d'opération au niveau des incinérateurs (Mahmood and Elliott, 2006).

- **Carbonisation**

Dans cette technique, les boues préalablement séchées ou déshydratées sont décomposées thermiquement à 750°C dans des conditions dépourvues d'oxygène dans un four à chauffage externe. Les sous-produits de cette opération sont composés de matières inorganiques et de carbone. Une quantité de 60 à 70% du carbone constituant les boues se transforme en résidu après carbonisation. Le reste (30 à 40 %) est transformé en gaz BTU qui sert de source principal pour le chauffage du four (Mahmood and Elliott, 2006).

- **Vitrification**

Le procédé de vitrification est réalisé en deux étapes à haute température et en présence d'oxygène. Dans le premier stage, les biosolides déshydratés sont séchés avant d'être expédiés vers le second stage de fonte/solidification. Les biosolides ainsi traités à haute température perdent leur portion organique laissant un agrégat sous forme vitreuse. Un tel produit pourrait être utilisé dans l'industrie de la céramique (Mahmood and Elliott, 2006).

- **Gazéification**

Dans cette technique, les boues réagissent avec la vapeur à des températures de 650 à 720°C. Ceci permet de transformer ces boues en gaz à valeur valorisable. Les sous-produits inorganiques sont complexés avec le carbone résiduel (Mahmood and Elliott, 2006).

- **Pyrolyse**

Cette technique ressemble à la carbonisation avec une seule exception au niveau de la température de volatilisation (300-350 °C). Les volatils sont ensuite condensés sous forme d'hydrocarbures aliphatiques dans un stage subséquent. La pyrolyse permet de réduire les boues à 40% de leur volume initial. Or, la valorisation des sous-produits dépend du rendement de conversion en hydrocarbures qui n'est pas toujours assez élevé (Mahmood and Elliott, 2006).

2.3.3.2 Oxydation chimique

- **Oxydation à l'eau supercritique**

L'eau à une température supérieure à 374 °C et sous une pression de 22 MPa existe sous forme de fluide supercritique qui est un état entre un liquide et un gaz. À un tel état, l'eau devient un très bon solvant pour les molécules organiques (Mahmood and Elliott, 2006). L'eau supercritique réagit avec ces molécules organiques (y compris celles des boues biologiques) les transformant en petites molécules. Selon la température appliquée, l'oxydation de la matière organique peut être complète et les sous-produits finaux sont dans ce cas : CO₂, H₂O et un résidu minéral. Dans le cas de boues, le traitement à l'eau supercritique a permis d'enlever 99.9 % de COD totale à une température de l'ordre de 400 °C (Griffith and Raymond, 2002; Shanableh and Shimizu, 2000). Le procédé comportait les étapes suivantes : pressurisation des boues et mélange avec de l'oxygène pressurisé, préchauffage de la mixture, chauffage et réaction (300-600°C), récupération de chaleur par refroidissement et enfin dépressurisation. Des résultats pour quelques études réalisées à l'université de Texas sur les performances de l'oxydation à l'eau supercritique ont été cités dans (Crain et al., 2000). Les auteurs ont rapporté des enlèvements de COD de 95.1 à 99.4 % pour un traitement de boues municipales ayant à l'origine une COD de 14200 mg/L. Les temps et les températures de réaction étaient dans les plages 4-8 min et de 400-450 °C respectivement.

- **Oxydation à l'air humide**

L'oxydation à l'air humide, appelée aussi oxydation à l'eau sub-critique, est une méthode d'oxydation sans flamme utilisée principalement pour oxyder la matière organique au moyen de l'air humide ou d'autres agents oxydants. Les pressions et les températures utilisées sont dans les plages 1-10 MPa et 120-300°C respectivement, le temps de réaction est de 15 à 120 min (Djafer et al., 2000; Shanableh and Shimizu, 2000). Le procédé est similaire à celui à l'eau supercritique

à l'exception du domaine de température qui ne doit jamais atteindre la valeur de 376°C. L'oxydation à l'air humide permet d'hydrolyser les boues à plus de 95% mais sans permettre de les oxyder au complet (Shanableh and Shimizu, 2000). Selon l'étude (Djafer et al., 2000), le résidu solide ne contient qu'une faible quantité de matière organique (1-2 % en masse (TOC) selon les paramètres d'opération). Les solides sont faciles à décanter et à déshydrater avec un contenu final de 50 à 60% de matières sèches.

- **Digestion alcaline**

La digestion *Alkali* est un traitement chimique qui vise la solubilisation des boues en utilisant des solutions de NaOH. Cette technique peut être intégrée dans la ligne de recirculation des boues avant de retourner les boues au bioréacteur aéré mais aussi comme prétraitement pour améliorer la stabilisation des boues par digestion. Un procédé de désintégration de boues a été développé et testé avec succès pour la réduction de boues en excès dans (Yamaguchi et al., 2006). Ce procédé (*JEF-SD*) est constitué de deux étages : un traitement *Alkali* (premier étage) à un pH dans la plage 9-12 pour améliorer la dégradation des boues, suivi d'un traitement biologique (second étage) qui met en œuvre des microorganismes acclimatés à la dégradation des sous-produits du premier étage. Ces deux étages sont installés sur la ligne de recirculation des boues avant de retourner au bioréacteur aéré. L'intégration du JEF-SD a permis de réduire les boues de 50%. L'étude de l'effet du traitement *Alkali* sur la solubilisation des boues secondaires a été effectuée dans (Chen et al., 2007). L'étude a démontré que l'augmentation du pH améliorerait la solubilisation des boues. La fermentation de ces boues s'est montrée également plus intéressante suite au prétraitement *Alkali*.

2.3.3.3 Procédés de digestion de boues

Ce thème sera abordé avec plus de détails dans la section 2.5 de ce document.

2.4 Procédé de bioréacteur à membranes

2.4.1 Définition et utilisation du procédé du MBR

Les applications membranaires n'ont été conçues qu'au début de la deuxième moitié du 20^e siècle pour le traitement de l'eau potable. Or, avec des contraintes environnementales de rejet de

plus en plus sévères couplées au développement spectaculaire qu'a connu l'industrie de fabrication des membranes, de nouvelles applications membranaires de microfiltration (MF) et d'ultrafiltration (UF) ont été développées dans le domaine des eaux usées et ce à partir des années 1970 (WEF, 2006).

Le procédé de bioréacteur à membranes (MBR) est constitué d'un réacteur de boues activées, généralement en conditions aérobies, auquel s'ajoute un module ou un ensemble de modules membranaires de micro ou d'ultrafiltration remplaçant le décanteur secondaire. Deux configurations se présentent pour ces modules : submergés dans le bioréacteur ou externes (Cicek et al., 1998; Metcalf & Eddy, 2003; WEF, 2006). Le rôle principal de ces membranes est de retenir la biomasse et les matières solides. Dans le cas de modules externes, une recirculation des boues retenues par les membranes est nécessaire (Figure 2.7).

Le procédé de MBR a été utilisé avec succès pour le traitement d'eaux usées d'origine municipale ou industrielle (Brindle and Stephenson, 1996; van Dijk and Roncken, 1997) et pour des applications de traitement visant la réutilisation des eaux usées (Cicek et al., 1998).

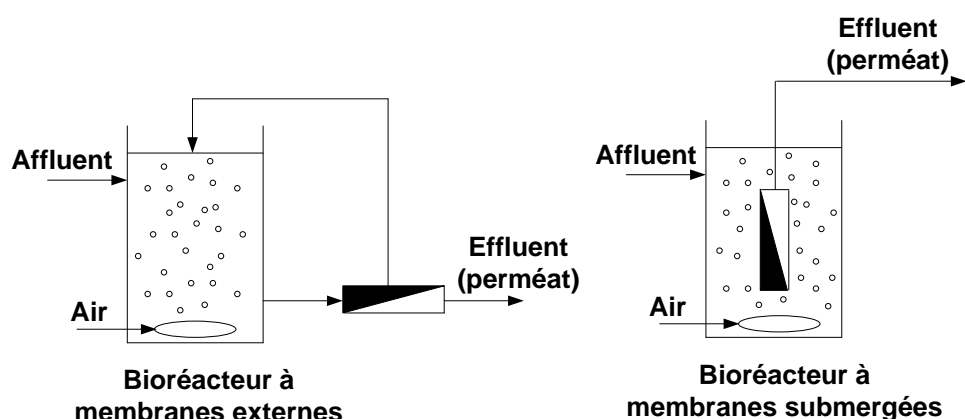


Figure 2.7 - Configurations des bioréacteurs à membranes, adaptée de (WEF, 2006)

2.4.2 Aperçu général sur le procédé de MBR

2.4.2.1 Caractéristiques du procédé de MBR

Le procédé de MBR présente les avantages suivants (Laera et al., 2005; Metcalf & Eddy, 2003; Wei et al., 2003):

- un effluent de très bonne qualité (TSS, BOD et turbidité) indépendamment des caractéristiques de décantation de la liqueur mixte;
- une grande flexibilité pour découpler le SRT du HRT ;
- une charge volumétrique élevée et, par conséquent, un petit HRT ;
- une possibilité d'avoir un SRT élevé, soit un faible taux de charge organique F/M (*food to microorganisms*) ;
- une possibilité d'opérer le système à une **faible** consigne d'oxygène dissous (DO) avec une possibilité de **nitrification/dénitrification** à un SRT élevé ;
- un procédé moins encombrant (unité de traitement compacte) ;
- une stabilité et une fiabilité au niveau des opérations et du contrôle automatique du système.

Le procédé de MBR présente, toutefois, des inconvénients qui se résument en ce qui suit (Metcalf & Eddy, 2003) :

- un capital d'investissement élevé ;
- des données limitées sur la durée de vie des membranes ;
- des coûts élevés pour le remplacement périodique des membranes ;
- des coûts d'énergie élevés (aération moins efficace);
- un besoin de contrôle continu du colmatage des membranes.

Par ailleurs, les MBR peuvent être opérés à des concentrations relativement élevées en MLSS (15 à 25 g/L) par rapport aux systèmes conventionnels de boues activées (Côté et al., 1998; Laera et al., 2005). Cependant, les coûts liés aux conditions d'opération à ces concentrations de MLSS sont élevés (colmatage, énergie, membranes de remplacement). À cet effet, la plage 8 à 10 g/L de MLSS est recommandée pour garder un niveau de rentabilité acceptable lorsque tous ces facteurs sont pris en considération (Metcalf & Eddy, 2003).

2.4.2.2 Caractéristiques des membranes

- **Classification des procédés membranaires**

Sous le terme de procédés membranaires, on regroupe la microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF), l'osmose inverse (OI), la dialyse et l'électrodialyse (ED) (Metcalf &

Eddy, 2003). Selon la taille des composés se trouvant dans les eaux usées, les plages d'opération de chaque procédé membranaire peuvent être répartie selon le schéma de la Figure 2.8 (Metcalf & Eddy, 2003; WEF, 2006). Pour le traitement des eaux usées, l'intérêt est focalisé principalement sur les deux premiers (MF&UF).

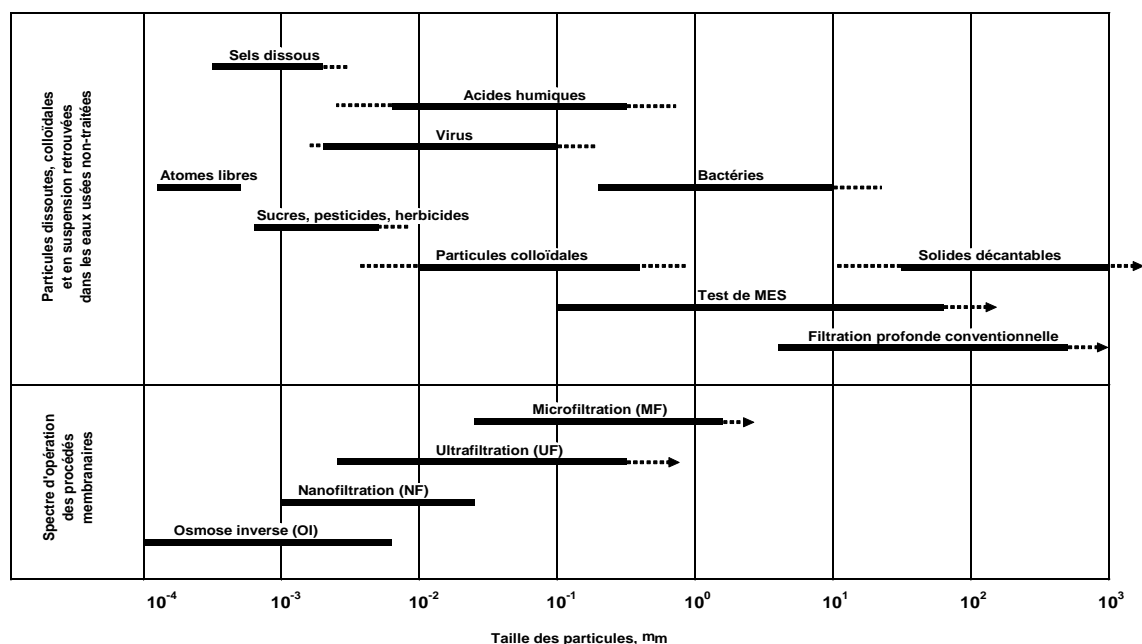


Figure 2.8 - Comparaison des intervalles d'opération des procédés membranaires et des principaux constituants des eaux usées (¹tirée de Chevalier (2005))

• Matériaux de fabrication des membranes

Les matériaux utilisés pour la fabrication des membranes sont soit organiques (polymères) ou inorganiques à base de céramique ou d'oxydes métalliques (WEF, 2006). Certaines membranes inorganiques (dioxyde de titane) ont de grandes résistances au niveau chimique, thermique et mécanique, mais elles sont très coûteuses (WEF, 2006). La plupart des membranes utilisées en traitement des eaux usées sont fabriquées à partir de polymères organiques. Celles-ci ont tendance à se compacter, comportement qui réduit leur perméabilité avec la fréquence

¹ La figure originale se trouvant dans (WEF, 2006) et (Metcalf & Eddy, 2003) a été adaptée (traduction en français) par Chevalier (2005)

d'utilisation. À cet effet, la pression appliquée pour la perméation est un paramètre très déterminant qui ne doit jamais s'écarter de la plage recommandée par le fabricant.

- **Modules membranes**

On désigne par module membranaire l'ensemble de l'unité regroupant les membranes, le support de pression, l'entrée de l'alimentation, les sorties du perméat et du rétentat et la structure qui supporte l'ensemble de ces éléments (Metcalf & Eddy, 2003). Selon leur géométrie plane ou cylindrique, quatre types de modules sont à distinguer :

- **Module tubulaire** : Dans cette configuration, des membranes cylindriques sont attachées à leurs extrémités à un support tubulaire mis sous pression. L'alimentation se fait à l'intérieur des tubes et le perméat est collecté à l'extérieur. Le rétentat continue à circuler à travers le tube. Cette disposition facilite le nettoyage des surfaces des membranes colmatées qui se fait à l'aide d'un produit chimique accompagné d'un nettoyage mécanique (raclage de la paroi). Le diamètre externe des membranes tubulaires est de l'ordre de 25 mm. Elles sont relativement coûteuses et s'utilisent pour des eaux usées chargées en TSS. La figure 2.9 présente la structure des modules tubulaires.

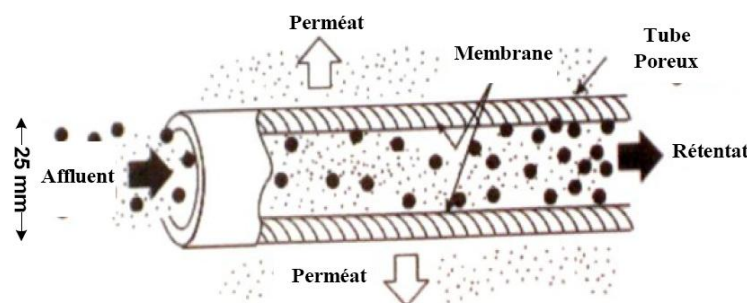


Figure 2.9 - Schéma d'un module tubulaire, adaptée de (WEF, 2006)

- **Module à fibres creuses** : Un module à fibres creuses (Figure 2.10) est composé d'une centaine de fibres creuses (voire un millier) de forme tubulaire mais avec un petit diamètre externe (1 à 2 mm). Ceci permet d'avoir un meilleur rapport de surface membranaire par volume occupé (WEF, 2006). L'ensemble est inséré dans un tube mis sous pression. Deux configurations sont possibles pour l'alimentation en eaux usées : de l'intérieur vers l'extérieur ou l'inverse. La possibilité d'avoir

une grande densité de fibres par module couplée au faible besoin en pression pour la perméation ont permis de réduire considérablement le coût de ces membranes. Ce type de modules devient ainsi le plus populaire dans le traitement des eaux usées.

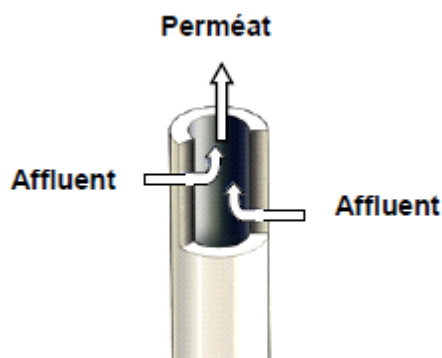


Figure 2.10 - Schéma d'une fibre creuse, adapté de (WEF, 2006)

- **Module spirale** : Un module spirale consiste à introduire un élément espaceur flexible (*spacer*) entre deux membranes planes qui sont scellées sur trois côtés. Le côté libre est attaché et à un tube perforé autour duquel l'ensemble est enroulé. L'écoulement dans le système est de l'extérieur vers l'intérieur et se fait à travers le *spacer*. La figure 2.11 montre la structure d'un module spirale.

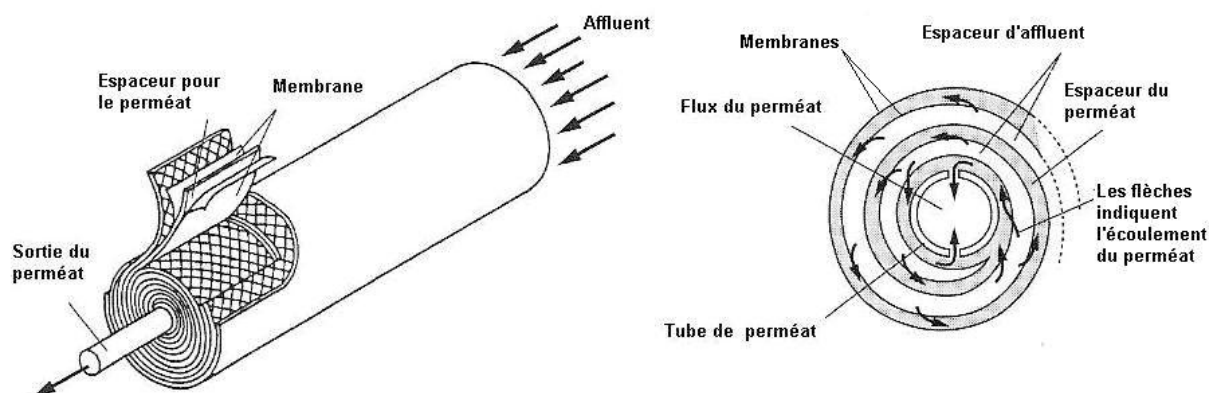


Figure 2.11 - Schéma d'un module spirale (²tiré de Chevalier (2005))

² La figure originale se trouvant dans (WEF, 2006) et (Metcalf & Eddy, 2003) a été adaptée (traduction en français) par Chevalier (2005)

- **Module à membranes planes** : Ces modules sont composés de plusieurs séries de feuilles de membranes planes et de supports plats (figure 2.12). Dans cette configuration, un module peut héberger plusieurs cartouches de membranes. La liqueur mixte est filtrée lorsqu'elle s'écoule entre et parallèlement à ces cartouches qui sont typiquement espacées de 10 mm (WEF, 2006).

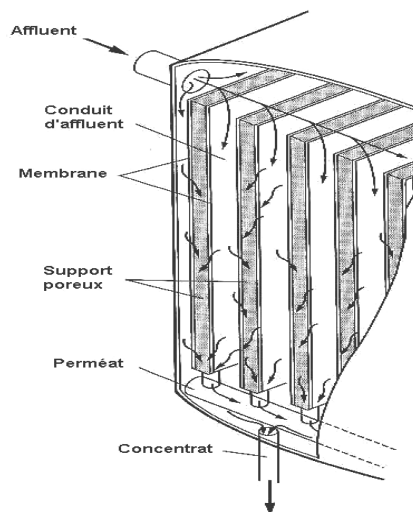


Figure 2.12 - Schéma d'un module à membranes planes (³tiré de Chevalier (2005))

- **Sélection de membranes MF et UF**

Le Tableau 2.7 fait une comparaison entre les caractéristiques des principaux types de membranes de micro et d'ultrafiltration disponibles sur le marché. Ce tableau a été cité dans (WEF, 2006) et ne donne aucune information quant aux constructeurs des membranes.

³ La figure originale se trouvant dans (WEF, 2006) et (Metcalf and Eddy et al., 2003) et a été adaptée (traduction en français) par Chevalier (2005)

Tableau 2.7 - Comparaison des caractéristiques des membranes de type MF et UF utilisées dans le traitement des eaux usées

Module	externe	externe	externe	externe	externe	immergé	immergé	immergé	immergé
Matériau de la membrane	PES hydrophilique	PES et PVP hydrophilique	PVDF	PP	PVDF	PP	PVDF	Composite PVDF sur nylon	Composite PVDF sur nylon
Écoulement	Int-Ext	Int-Ext	Int-Ext	Ext-Int	Ext-Int	Ext-Int	Ext-Int	Ext-Int	Ext-Int
Type	FC-UF	FC-UF	FC-MF	FC-MF	FC-MF	FC-MF	FC-MF	FC-UF	FC-UF
Produits de lavage	NaOH, NaOCl, C ₆ H ₈ O ₇ , HCl, H ₂ SO ₄	NaOCl, H ₂ O ₂ , NaOH, EDTA, HCl, C ₆ H ₈ O ₇	NaOCl, C ₆ H ₈ O ₇ , NaOH	C ₆ H ₈ O ₇ , H ₃ PO ₄ , HCl, NaOH, détergents	C ₆ H ₈ O ₇ , H ₃ PO ₄ , HCl, NaOCl	C ₆ H ₈ O ₇ , H ₃ PO ₄ , HCl, NaOH, détergents	C ₆ H ₈ O ₇ , H ₃ PO ₄ , HCl, NaOCl	NaOCl, C ₆ H ₈ O ₇ , solutions basiques	NaOCl, C ₆ H ₈ O ₇ , solutions basiques
Tolérance au Cl ₂ (ppm)	2 en continu 100 max, 2*10 ⁵ ppm-h pour le CV	500 max 2.5*10 ⁵ ppm-h pour tout le CV	1000 durant le nettoyage	0 (pas tolérant)	200 durant le nettoyage	0 (pas tolérant)	200 durant le nettoyage	2000 durant le nettoyage	2000 durant le nettoyage
D.I des fibres	0.8-1.2 mm	0.8-1.5 mm	0.7 mm	0.25 mm	0.39 mm	0.5 mm	0.5 mm	0.72 mm	0.35 mm
D.E des fibres	1.3-2.0 mm	1.3 mm	1.3 mm	0.55 mm	0.65 mm	0.8 mm	0.8 mm	1.95 mm	0.7 mm
Taille des pores	150 kDa	150-200 kDa	0.1 µm	0.2 µm	0.1 µm	0.2 µm	0.1 µm	0.04 µm	0.02
TMP max (psi)	20	18	30	30	30	12.5	12.5	12	10
TMP typique	3-22	< 7	5-25	5-25	5-25	3-8	3-8	3-8	3-8
Rétrolavage	H ₂ O et/ou NaOCl, H ₂ O ₂	H ₂ O et/ou NaOCl, HCl, H ₂ O ₂	Air et H ₂ O et/ou NaOCl	Air et H ₂ O	Air et H ₂ O	Air et H ₂ O	Air et H ₂ O	H ₂ O et/ou NaOCl	H ₂ O et/ou NaOCl

PES = polyethersulfone ; PVDF = polyvinylidene-fluoride ; PP = polypropylène ; PVP = polyvinylpyrrolidone ; FC= fibre creuse ; MF : microfiltration ; UF= ultrafiltration ; Int= intérieur ; Ext = extérieur ; D.I = diamètre interne, D.E = diamètre externe ; ϕ = taille nominale ; kDa = coupure de poids moléculaire exprimée en kilodaton ;

2.4.2.3 Traitements préliminaires nécessaires

Les membranes sont des éléments cruciaux des systèmes de MBR vu leur coût élevé, leur problème de colmatage et leur durée de vie limitée. Les traitements préliminaires visent à minimiser au maximum la fréquence de remplacement de ces membranes et à maintenir les performances de traitement.

- **Égalisation de débit**

La conception d'un procédé de bioréacteur à membranes passe toujours par une bonne détermination des débits de l'affluent allant alimenter le procédé, paramètre qui affecte le choix

et la conception de tous les équipements membranaires nécessaires. À cet effet, les critères de conception des membranes dépendent principalement de la variabilité des débits sollicitant l'unité, les périodes de pics et les degrés de colmatage qui leur sont associés (WEF, 2006). Ainsi, un système d'égalisation de débit devrait être installé en tête du procédé. Lorsque le procédé de MBR est conçu pour un traitement visant la réutilisation des eaux usées, le débit requis par les utilisateurs de ces eaux est typiquement le critère de décision pour la conception du système (WEF, 2006).

- **Enlèvement du *Trash***

Les performances et la durée de vie des membranes sont très affectées par la présence du *trash* et des matières fibreuses telles que les cheveux et le papier généralement acheminés avec les eaux usées (WEF, 2006). En effet, l'accumulation du *trash* sur les membranes réduit largement la surface dédiée à la perméation et augmente, par conséquent, la pression transmembranaire (TMP). De plus, le nettoyage de membranes ayant accumulé du *trash* à leur surface n'est pas une tâche facile et conduit dans la majorité des cas à leur usure. Par ailleurs, les systèmes d'aération sont également sujets à l'encrassement en présence du *trash* et des matières fibreuses. À l'heure actuelle, la majorité des manufacturiers recommandent des systèmes de tamisage à ouverture de diamètres dans la plage 2-3 mm. Cependant, et pour améliorer la qualité du tamisage, et éviter le colmatage des ouvertures des tamis, deux pratiques sont utilisées : la prévention par by-pass et l'emploi d'ouvertures à deux dimensions (WEF, 2006).

- **Enlèvement du *grit***

L'endommagement des membranes par action abrasive est engendré par la présence du *grit* surtout en milieu turbulent créé par le système d'aération. En général, dans les grandes implantations, le *grit* décante dans les bassins du procédé avant d'atteindre la zone où se trouvent les membranes. Cependant, pour des petites unités, un bassin de sédimentation du *grit* est utilisé à cet égard. Par ailleurs, l'enlèvement du *grit* permet aussi de protéger les pompes.

- **Enlèvement des huiles et des graisses**

Pratiquées déjà dans des stations d'épuration conventionnelles, les opérations de déshuilage et de dégraissage sont indispensables lorsque les eaux usées contiennent de grandes quantités d'huiles

et de graisses. En effet, ces matières causent des problèmes de colmatage une fois en contact avec le système membranaire (WEF, 2006).

2.4.2.4 Contrôle du colmatage des membranes

Lors de l'étape de perméation dans un procédé de MBR, la biomasse a tendance d'adhérer au maximum à la couche externe des membranes sous l'effet de la TMP. Ainsi, les fines particules peuvent pénétrer dans les pores internes des membranes engendrant une augmentation dans la TMP. Si la situation n'est pas contrôlée, le débit de perméation va diminuer et les membranes s'encrassent davantage et finissent par s'endommager. À cet effet, la mise en place d'un système de contrôle du colmatage est très indispensable. Zenon Environmental inc. a développé une technique pour un tel contrôle qui se résume en 3 points (Metcalf & Eddy, 2003):

- Système d'aération à la base des modules membranaires permettant de faire vibrer les fibres des membranes et d'enlever au mieux les solides qui peuvent adhérer à leur surface ;
- La filtration ou perméation est arrêtée régulièrement chaque les 15-30 min pour laisser la place à une opération de rétrolavage des fibres membranaires d'une courte durée (30-45 secondes). Le système reste en ligne durant le rétrolavage et la durée totale du rétrolavage est de l'ordre de 45 minutes par jour. Une concentration faible de chlore (5 mg/L) est maintenue dans le bassin de rétrolavage pour inactiver et éliminer les microorganismes qui colonisent la couche externe de la membrane ;
- Une procédure, appelée *nettoyage de maintenance* et recommandée pour une fréquence de 3 fois par semaine, consiste à faire un rétrolavage à l'aide d'une solution concentrée (100 mg/L) d'hypochlorite de sodium (NaHOCl) ou d'acide citrique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) pour une durée de 45 min. L'acide citrique permet également de faire face aux dépôts inorganiques tels que CaCO_3 , CaSO_4 , MgCO_3 et MgSO_4 (WEF, 2006). Après ce nettoyage in situ, le système est rincé avec l'eau du perméat pour 15 min. Un rinçage additionnel (10-15 min) peut s'imposer pour purger le chlore libre du système. La durée totale de cette procédure est d'environ 75 min.

Lorsque le colmatage persiste, le module membranaire est retiré en vue d'un lavage chimique externe. En principe, lorsque la TMP atteint des valeurs avoisinant les 60 kPa, un tel lavage s'impose. À cet effet, une solution concentrée de NaHOCl est utilisée dans un bassin situé de

préférence à proximité du bioréacteur. Le lavage externe est pratiqué en raison de 3 à 6 mois (Metcalf & Eddy, 2003).

2.4.2.5 Conditions d'opération et performance des MBRs

Pour des eaux usées municipales, les conditions d'opération du MBR et la qualité de l'effluent d'eau traitée sont regroupées dans le Tableau 2.8 (Metcalf & Eddy, 2003; WEF, 2006).

Tableau 2.8 - Conditions d'opération et performances typiques des MBRs

	Paramètres	Unités	Valeurs
Conditions d'opération	Charge en COD	kg/m ³ /d	1.2-3.2
	MLSS	g/L	5-20
	MLVSS	g/L	4-16
	F/M	g COD/g MLVSS/d	0.1-0.4
	SRT	d	5-20
	HRT	h	4-6
	Flux	L/m ² /d	600-1100
	TMP	kPa	4-35
	DO	mg/L	0.5-1.0
Performances	BOD ₅ carbonée	mg/L	
	COD	mg/L	< 5
	TSS	mg/L	< 1
	NH ₃	mg-N/L	< 1
	TN (avec zone anoxie en tête)	mg-N/L	< 10
	TN (avec zone anoxie et zone post-anoxie)	mg-N/L	< 3
	TP (avec déphosphatation chimique)	mg-P/L	< 0.2 (typique) < 0.05 (atteignable)
	TP (avec déphosphatation biologique)	mg-P/L	< 0.5
	Turbidité	NTU	< 0.2
	Bactéries	log enlevé	Jusqu'à 6
	Virus	log enlevé	Jusqu'à 3

2.4.3 MBR et réduction de la production de boues

2.4.3.1 MBR et SRT élevé

Le procédé de MBR est caractérisé par la possibilité d'avoir un très long SRT avec une forte concentration de biomasse ainsi qu'un faible taux de charge organique F/M (*food to microorganisms*). Ainsi, l'accroissement du SRT et de la concentration de la liqueur mixte augmentent la respiration endogène et les besoins en aération. En effet, une rétention quasi-totale ou totale de la biomasse et des métabolites grossiers dans le MBR, favorise des processus microbiens de type croissance cryptique sur des sous-produits microbiens, maintenance, lyse cellulaire, mais aussi prédation par des microorganismes supérieurs (protozoaires et métazoaires) (Low and Chase, 1999a; Wei et al., 2003; Witzig et al., 2002). Ces facteurs conduisent à une faible production de la biomasse hétérotrophe et encouragent probablement l'acclimatation de cette biomasse ou de microorganismes supérieurs aux composantes particulières organiques (X_E et $X_{U,Inf}$) et inorganique (X_{Ig}). Certains auteurs ont souligné que l'augmentation du SRT dans un MBR favorise le développement de petits flocs, de bactéries libres et de colloïdes de petites tailles (Luxmy et al., 2001; Massé et al., 2006), situation qui améliore d'une part, les cinétiques d'hydrolyse par augmentation de la surface spécifique du floc en contact avec les enzymes (Dimock and Morgenroth, 2006) et d'autre part, qui favorise la prédation des bactéries libres et des petits flocs par des protozoaires et métazoaires.

Les études les plus spectaculaires portant sur l'opération des MBR à des SRTs élevés (20d à infini) ont été effectuées par l'équipe de Pollice (Laera et al., 2007; Laera et al., 2005; Pollice et al., 2007; Pollice and Laera, 2005; Pollice et al., 2004; Pollice et al., 2008a,b). Ces études ont montré que les aspects biologiques de la biomasse développée dans ces systèmes membranaires n'ont pas été affectés par l'accroissement du SRT mais que les caractéristiques physiques des boues (viscosité, filtrabilité) avaient tendance à se détériorer avec un SRT croissant tout en restant dans les plages rapportées pour des systèmes conventionnels (Pollice et al., 2008b). Un SRT optimal de 80 d a été recommandé dans (Pollice et al., 2008b) sur base de la faisabilité technique, le maintien des performances du système et le coût de gestion des boues générés. Le SRT optimal recommandé correspond pour la charge organique appliquée, à des valeurs de MLSS dans la plage 8-10 g/L, suggérée pour une opération rentable des MBRs dans (Metcalf & Eddy, 2003).

En termes de réduction de boues, ces études ont toutes souligné que le procédé membranaire, opéré à un SRT élevé, était capable de réduire la production de boues. Ceci semble normal étant donné que le MBR à un SRT élevé peut être assimilé à un système conventionnel muni d'un décanteur idéal et opéré en mode d'aération prolongée ($F/M = 0.04-0.10 \text{ g BOD/ g VSS.d}$ (Metcalf & Eddy, 2003)). Ainsi, la production de boues est réduite davantage avec le SRT dans un MBR. La question qui se pose à ce niveau est la suivante :

Est-ce que cette réduction de boues concerne seulement la fraction active X_H ou atteint également les fractions X_E et $X_{U,Inf}$?

La concentration des VSS dans le système membranaire à rétention complète de (Laera et al., 2005) est présentée sur la Figure 2.13. Les auteurs estimaient que leur système, opéré pour une période de 360 d, aboutissait à un régime stable dans lequel la charge organique restait constante ($0.07 \pm 0.01 \text{ g COD/g VSS/d}$) et émettaient l'hypothèse de dégradation des fractions inertes dans leur système (X_E , $X_{U,Inf}$ et X_{Ig}). Malheureusement, aucune quantification pour la dégradation de ces fractions n'a été présentée dans cette étude. De plus, la courbe de la Figure 2.13 montre une variation des VSS dans leur système vers la fin de l'expérience ($17.3 \pm 1.1 \text{ g VSS/L}$). Il faut noter également que l'affluent de leur procédé (Tableau 2.9) présentait également une variabilité significative en termes de COD, VSS et TKN. Ces considérations ne permettent pas de confirmer si une dégradation se produisait effectivement dans leur système membranaire.

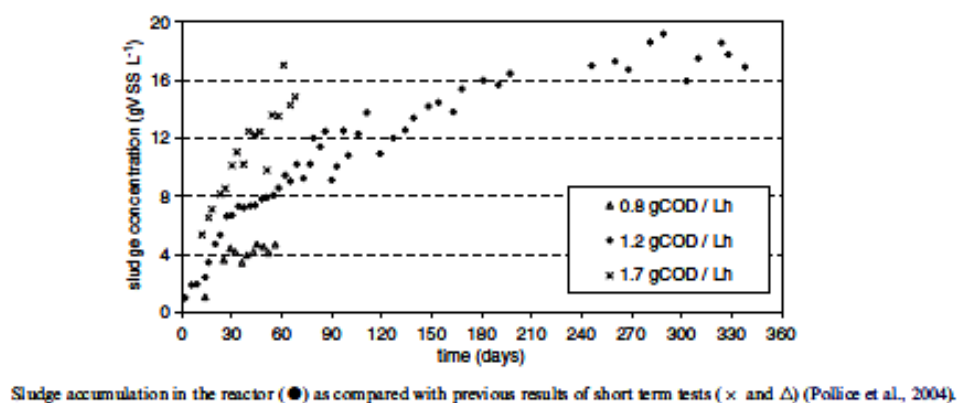


Figure 2.13 - Évolution des VSS en MBR à rétention complète de solides (Laera et al., 2005)

Tableau 2.9- Caractéristiques d'affluent (Laera et al., 2005)

Paramètre	unité	Valeur	Écart-type
TSS	mg TSS/L	200	70
VSS	mg VSS/L	160	50
COD	mg O ₂ /L	400	106
TKN	mg N/L	49.3	9.5
NH ₄ ⁺	mg N/L	36.6	7.6
NO ₃ ⁻	mg N/L	0.7	1.7

Par ailleurs, et dans une étude portant sur l'accumulation de boues dans des systèmes de type *fill-and-draw* (Washington and Hetling, 1965) alimentés en substrat soluble (acétate ou glucose) et opérés pour des périodes allant de 20 à 35 semaines, les auteurs ont montré une augmentation linéaire des VSS due à une accumulation du résidu endogène dans ces systèmes (Figure 2.14). Au début des tests, la biomasse hétérotrophe augmentait rapidement et en parallèle le résidu endogène commence à s'accumuler dans le système. Après 5 à 6 semaines (Figure 2.14), la production journalière de la biomasse s'équilibrait avec sa dégradation en résidu endogène et la concentration de cette biomasse atteint un niveau constant (i.e. $dX_H/dt = 0$). À partir de ce point d'équilibre, une accumulation linéaire des VSS s'observait dans ces systèmes suite à la génération et l'accumulation du résidu endogène puisque la biomasse hétérotrophe ne changeait pas dans ces systèmes. Cette accumulation indique que le résidu endogène ne se dégradait pas dans ces systèmes. Autrement, les droites d'accumulation des VSS auraient dû se courber.

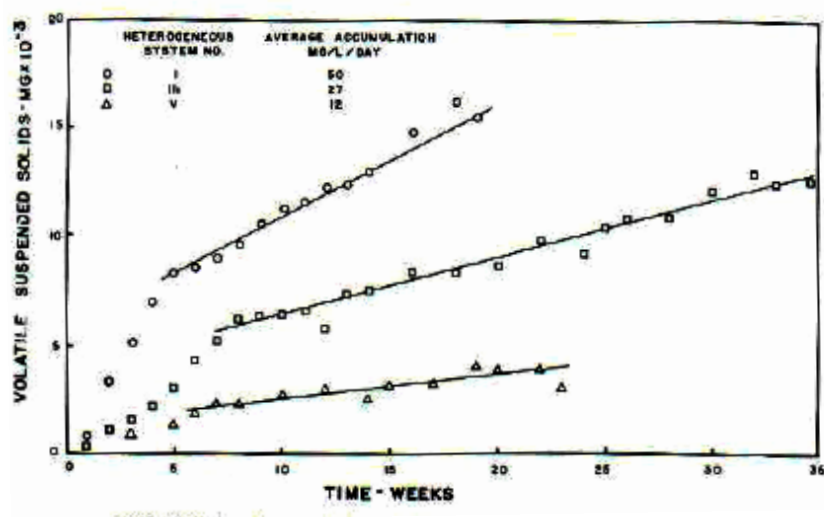


Figure 2.14 - Accumulation des VSS dans des systèmes *fill-and-draw* (Washington and Hetling, 1965)

Une troisième étude réalisée en MBR a été recensé vers la fin de notre projet doctoral qui porte sur la modélisation de la production de boues à de longs SRTs (Lubello et al., 2010). Dans cette étude, les auteurs proposent d'introduire des cinétiques d'hydrolyse de premier ordre pour les fractions X_E et $X_{U,Inf}$ afin d'arriver à modéliser la production de boues dans leur système membranaire. Des constantes de dégradation identiques ont rapportées pour X_E et $X_{U,Inf}$ avec une valeur de 0.012 d^{-1} pour des eaux usées de tannerie et une valeur de 0.014 d^{-1} pour des eaux de l'industrie de textile. Ces deux valeurs semblent assez élevées et peuvent être expliquées par quelques considérations au niveau des simulations :

- Dans leur système, les auteurs utilisaient la même valeur pour le rendement des hétérotrophes que ce soit en aérobie ou en anoxie alors que le volume anoxie représentait presque 50% de celui aérobie. S'ils avaient considéré une valeur inférieure pour le rendement des hétérotrophes en anoxie, ils n'auraient forcément pas été obligés d'introduire des constantes élevées pour dégrader plus de X_E et de $X_{U,Inf}$ en vue d'ajuster leur production de boues;
- Les auteurs considéraient que les deux fractions X_E et $X_{U,Inf}$ se dégradait dans leur système et à un taux similaire. Cette hypothèse n'a été démontrée nulle part dans leur approche. Il se peut que seulement X_E soit dégradable dans leurs tests mais pas les deux fractions. De plus, le choix d'un même taux de dégradation n'était pas non plus justifié.

Les résultats des trois études réalisées en conditions aérobies (Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009; Washington and Hetling, 1965) à des SRTs élevés, voire à des rétentions complètes de solides, que ce soit en réacteur à membranes ou dans les systèmes *fill-and draw*, viennent mettre en évidence l'aspect controversé de la dégradation du résidu endogène (et du $X_{U,Inf}$) en conditions aérobies.

2.4.3.2 Système de boues activées conventionnels vs MBR

Peu d'informations existe dans la littérature sur la comparaison des systèmes de boues activées conventionnels à ceux de MBR dans des conditions opératoires similaires (caractéristiques de l'affluent, volume du réacteur aéré, HRT et SRT). Une seule étude qui répond à cette question a été recensée dans la littérature (Massé et al., 2006). Cette étude comparait non seulement les performances des deux systèmes mais aussi la structure des biomasses développées dans chaque procédé et ce à différents SRTs (10-110 d). Les enlèvements de la COD totale étaient de $90.8 \pm 0.2\%$ à $94.2 \pm 1.6\%$ pour le procédé membranaire et de $87.4 \pm 1.8\%$ à $90.3 \pm 0.8\%$ pour le procédé conventionnel. Les performances du MBR se doivent à une rétention idéale des solides mais aussi à une rétention des EPS colloïdales (polysaccharides et protéines). Cette fraction d'EPS est acheminée vers l'effluent dans le système conventionnel augmentant sa COD filtrable et totale. Cependant, sa rétention dans le système membranaire contribue davantage au colmatage des membranes. Au niveau de la production des boues, aucune différence n'a été observée entre les deux systèmes opérés à un même SRT. Pour le système membranaire, le rendement cellulaire observé passait de 0.31 g VSS/ g COD à 0.13 g VSS/ g COD lorsque le SRT passait de 9 à 110 d. L'étude soulignait que les caractéristiques des boues se détérioraient davantage dans le système conventionnel (bactéries filamenteuses, augmentation des EPS solubles). Dans le procédé membranaire, les EPS s'accumulaient aux faibles SRTs mais avaient tendance à se dégrader lorsque le SRT augmentait. Le suivi des caractéristiques des boues du MBR montraient que l'augmentation du SRT impliquait une décroissance dans la taille des flocs bactériens, une densification des agrégats et un développement de microorganismes à caractère non-floculant.

2.5 Procédés de digestion de boues

La digestion des boues demeure une pratique très utilisée pour la stabilisation des boues excédentaires. Cette section couvre les différents aspects de cette technique y compris les

prétraitements utilisés pour l'améliorer. Dans la majorité des travaux de recherche, la digestion des boues a été étudiée en tant qu'enlèvement apparent de VSS, de TSS ou de COD sans que des détails soient fournis quant aux fractions de boues dégradées dans le processus de digestion. Ceci est dû au fait que la non biodégradabilité de X_E et de $X_{U,Inf}$ était bien acceptée par presque tous les chercheurs. Donc, tous les efforts de stabilisation des VSS se focalisaient sur l'amélioration des procédés pour biodégrader la biomasse X_H . Les SRT recommandés dans les procédés conventionnels étaient souvent de 20 à 30 d à température ambiante, ce qui correspond à la période nécessaire à une dégradation complète de cette biomasse à 20°C dans un digesteur aérobie ou anaérobie. À l'heure actuelle, le développement des modèles mathématiques, basés notamment sur les fractionnements de la matière organique et inorganique constituant les boues à digérer, offre la possibilité de conduire des études expérimentales sur la digestion des boues assistées par la modélisation. Cette approche permet d'apprécier l'effet d'une digestion sur les différentes composantes des VSS dans les boues activées (X_H , X_E , $X_{U,Inf}$).

2.5.1 Techniques de digestion

2.5.1.1 Digestion aérobie

La digestion aérobie est similaire à un procédé de boues activées dans lequel les microorganismes consomment leur propre protoplasme pour obtenir l'énergie nécessaire à leur maintenance et rentrent ainsi en respiration endogène (Grady et al., 1999; van Haandel and Lubbe, 2007; Metcalf & Eddy, 2003). Ce procédé permet de stabiliser la biomasse active X_H qui se dégrade selon une cinétique de premier ordre mais accumule les fractions organiques X_I et X_E . L'enlèvement des VSS dépend fortement de la température et du SRT (Figure 2.15) et se situe dans la plage 38-50 %. Un ajout d'alcalinité est requis pour répondre aux besoins de la nitrification de l'azote ammoniacal généré (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003; van Haandel et al., 1998).

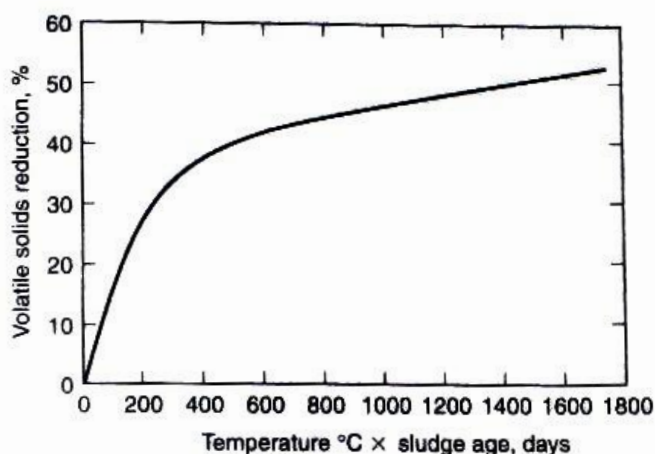


Figure 2.15 - Enlèvement de VSS en fonction de T et du SRT (Metcalf&Eddy, 2003)

Selon la température d'opération et le nombre de stages (digesteurs) mis en jeu dans ce procédé, il y a lieu de distinguer les variantes suivantes résumées dans le Tableau 2.10 (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003) :

Tableau 2.10 - Configurations pour le procédé de digestion aérobie

Configuration	Caractéristiques
Dual Digestion	<ul style="list-style-type: none"> - Stage aérobie + stage anaérobie (les deux en mésophile) - Stage aérobie (thermophile, 55 à 65°C, SRT: 18 à 24 h) + stage anaérobie (mésophile, SRT : 10 d) - Avantages : réduction de pathogènes, plus de réduction de solides, plus de méthane dans la phase anaérobie, moins de volume de digesteur requis.
Autothermal Thermophilic Aerobic Digestion	<ul style="list-style-type: none"> - Boues épaissies, digesteur avec isolation - T : 55 à 70 °C (si 2 stages : T₁ : 35-50°C et T₂ : 50-70 °C) - SRT : 6 à 8 d (plage 4-30 d) - Charge en VSS (25 g/L) : 3.2- 4.2 kg VSS/m³.d - ATAD, opéré en général, en microaération - Fermentation : $4 \text{ CH}_2\text{NH}_2\text{COOH} + 4 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 3 \text{ CH}_3\text{COOH} + 2 (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ - Consommation de l'acide acétique : $\text{CH}_3\text{COOH} + 2 \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ CO}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O}$ - pH : 8 à 9 - Avantages : SRT faible, possibilité de réduire les pathogènes à 55 °C, opération simple - Inconvénients : nitrification inhibée à T élevée, mauvaise déshydratation des solides générés
High-Purity Oxygen Digestion	<ul style="list-style-type: none"> - HP O₂ au lieu d'air, diffuseur spécial : <i>minute oxygen bubbles</i> - Avantages : Procédé exothermique, applicable même si la température est basse - Inconvénients : Coût élevé du HP O₂

2.5.1.2 Digestion anaérobie

La digestion anaérobie est un procédé opéré en l'absence d'oxygène et de nitrates qui permet de stabiliser la matière organique et inorganique (sulfates principalement). Il est fréquemment utilisé dans les stations d'épuration pour la stabilisation des boues primaires et secondaires (Grady et al., 1999; van Haandel and Lubbe, 2007; Metcalf & Eddy, 2003). Les produits finaux de ce procédé sont principalement le méthane et le dioxyde de carbone. Les processus mis en jeu dans une digestion anaérobie sont : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et méthanogénèse (Eastman, 1977; van Haandel and Lubbe, 2007; Metcalf & Eddy, 2003; Vavilin et al., 2008). La Figure 2.16 adaptée de van Haandel and Lubbe (2007) illustre, dans le cas de boues activées, les quatre processus énumérés ci-dessus y compris les principaux produits intermédiaires et finaux. L'hydrolyse de matière particulaire (protéines, carbohydrates et lipides) en molécules solubles (peptides, saccharides et acides gras volatils VFAs) est réalisée par des *exo*-enzymes secrétées par la biomasse fermentaire. Ce processus est l'étape limitant dans un procédé de digestion anaérobie (Eastman, 1977; van Haandel and Lubbe, 2007). Pendant l'acidogénèse, les produits hydrolysés sont convertis en VFAs (acétique, propionique et butyrique, principalement), alcools, aldéhydes et gaz (CO_2 , H_2 et NH_3). Les produits de l'acidogénèse sont transformés pendant l'acétogénèse en acide acétique, hydrogène et dioxyde de carbone. Enfin, la méthanogénèse vient convertir les produits des 3 étapes en méthane et dioxyde de carbone.

Le graphique droit de la Figure 2.17 permet d'apprécier cet aspect dans le cas de digestion anaérobie de boues primaires (O'Rourke, 1968);

- **pH** : un pH aux alentours de 7.0 est requis par les méthanogènes dont la croissance devient faible si l'on s'écarte de la plage 6.5-7.5;
- **Nutriments** : Les macroéléments (N et P) sont assurés automatiquement lors de la digestion des boues primaires ou secondaires. Certains auteurs ont évoqué des besoins en fer qui peut être problématique en cas de carence et que son ajout s'est montré bénéfique pour les performances d'un digesteur anaérobie (van Haandel and Lubbe, 2007; Novak et al., 2007; Park et al., 2006a);
- **Présence de toxiques** : toxicité liée au pH, excès de sulfures, excès de VFAs, excès d'ammonium et métaux lourds (Hg, Cd, Zn, Cr, Ni, etc.).

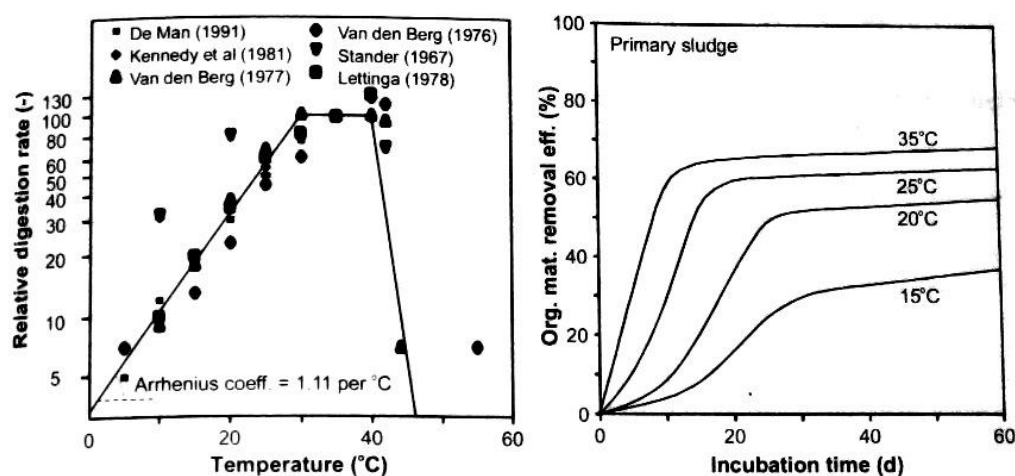


Figure 2.17 - Effet de la température et du SRT sur le rendement de digestion (van Haandel and Lubbe, 2007)

• Variantes du procédé de digestion anaérobie

Un résumé sur les variantes du procédé de digestion aérobie établi à partir de (Metcalf & Eddy, 2003) est fourni au Tableau 2.11.

Tableau 2.11 - Configurations du procédé de digestion anaérobie

Configuration	Caractéristiques
Single-Stage High-Rate Digestion	Digesteur chauffé, mélange uniforme et alimentation cyclique, enlèvement de VSS : 45-50 %
Two-Stage Digestion	Un premier digesteur (type Single-Stage High-Rate Digestion) est couplé en série à un second réservé au stockage (ni chauffé ni mélangé)
Separate Sludge Digestion	Boues primaires et secondaires traitées séparément
Staged mesophilic digestion	2 digesteurs en série opérés en mésophile : SRT_1 (7 à 10 d), SRT_2 variable, boues digérées faciles à déshydrater.
Temperature- Phased digestion TPAD	2 digesteurs D_1 et D_2 en série opérés selon les 2 configurations suivantes: - D_1 en thermophile, SRT_1 (3 à 5 d) et D_2 en mésophile, SRT_2 (7 à 15 d) - D_1 en mésophile, $SRT_1 > 7$ à 10 d et D_2 en thermophile, $SRT_2 > 5$ d <i>Rendement amélioré de 10-25% par rapport à un Single-Stage High-Rate Digestion</i>
Acid/Gas Phased Digestion	- 2 digesteurs D_1 et D_2 en série opérés selon les 2 configurations suivantes: - D_1 pour acidogenèse, mésophile, SRT (1 à 3 d) et D_2 pour méthanogenèse, mésophile ou thermophile, $SRT > 10$ d - D_1 pour acidogenèse, thermophile, SRT (1 à 2 d) et D_2 pour méthanogenèse, mésophile ou thermophile, $SRT > 10$ d - $pH_1 \leq 6$ et $pH_2 \approx 7$ ou légèrement alcalin <i>Rendement élevé d'enlèvement de VSS (50-60%, pleine échelle)</i>
Staged Thermophilic Digestion	Un Digesteur de taille large connecté à un ou plusieurs petits digesteurs (réduction de pathogènes) <i>Rendement de l'ordre de 63%.</i>

2.5.2 Techniques combinant la digestion de boues à d'autres prétraitements

Les différents prétraitements utilisés pour améliorer la digestion des boues sont résumés dans les Tableaux A1.1 à A1.5 de l'Annexe 1.

2.5.3 Digestion de boues et dégradation du X_E et $X_{U,Inf}$

Les différents procédés portant sur la digestion des boues (aérobie ou anaérobie) ont été conçus et mis en œuvre pour stabiliser la biomasse active des boues. La plupart des études recensées portaient d'une part, sur les aspects opératoires et d'optimisation des procédés et d'autre part, sur la détermination des paramètres cinétiques et la modélisation (Abbassi, 2003; Chen et al., 2007; Eastman, 1977; Eastman and Ferguson, 1981; Ghosh, 1991; Ghosh et al., 1975; Ghosh and Klass, 1977; Gomec et al., 2002; Gomec and Speece, 2003a, b; Jonsson and Jansen, 2006; O'Rourke, 1968; Park et al., 2006a; Parkin and Owen, 1986; Sotemann et al., 2005).

À notre connaissance, l'effet de la digestion sur les fractions organiques X_E et $X_{U,Inf}$ n'a été signalé que dans 5 études récentes (jusqu'au moment de la rédaction de cette thèse).

L'hypothèse de dégradation des fractions non biodégradables X_E et $X_{U,Inf}$ en anaérobie a été émise pour la première fois dans l'étude (Araujo et al., 1998). Les auteurs étudiaient l'effet de la fraction active des boues sur l'enlèvement des VSS en digesteur anaérobie. Ainsi, des boues contenant différentes fractions actives ont été générées dans des digesteurs aérobies opérés à différents SRTs. Ces boues alimentaient ensuite une série de digesteurs anaérobies (SRT = 20 d et $T = 25^\circ\text{C}$). Les résultats montraient une relation linéaire entre la fraction active dans les boues alimentées et l'enlèvement des VSS dans les digesteurs anaérobies. Par extrapolation de la courbe vers une fraction active de 0, les auteurs trouvaient un enlèvement minimal de 15% de VSS (Figure 2.18) et concluaient que ceci était dû à la dégradation des fractions organiques inactives (X_E et $X_{U,Inf}$). La fraction active dans cette étude a été déterminée en se basant sur une digestion aérobie prolongée des boues en cuvée avec mesure des taux d'utilisation d'oxygène (OUR).

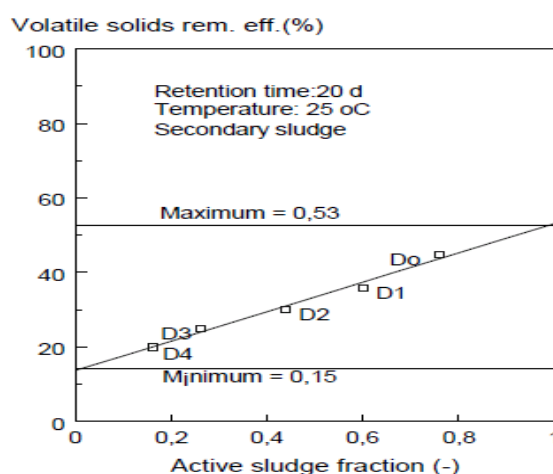


Figure 2.18 - Relation entre la fraction active et l'enlèvement des VSS (Araujo et al., 1998)

Une étude subséquente (Ekama et al., 2007) venait réviser les travaux de (Araujo et al., 1998). Les auteurs ont réinterprété les résultats expérimentaux d'Araujo et al. (1998) sur base de calculs théoriques effectués selon le modèle de (Sotemann et al., 2005). L'article d'Ekama et al. (2007) suggère que les fractions organiques non biodégradables (X_E et $X_{U,Inf}$) accumulées dans un système de boues activées ne sont pas biodégradées lorsqu'elles sont soumises à des conditions anaérobies. À cet effet, les auteurs ont conduit leur propre étude expérimentale (digestion

anaérobie de boues activées, SRT = 60 d et $T = 37^{\circ}\text{C}$) appuyée par des calculs théoriques sur base des modèles de (Sotemann et al., 2005) et de (Dold et al., 1980) et ont confirmé que X_E et $X_{U,Inf}$ demeurent non biodégradables par digestion anaérobie.

Une troisième étude a été réalisée dans (Jones et al., 2007). Les auteurs étudiaient en cuvette l'ultime biodégradabilité de boues primaires et secondaires pour une durée de 123 d selon une approche basée sur un suivi expérimental appuyé par une modélisation mathématique. Pour les boues primaires, la digestion a été bien simulée (VSS, COD et CH_4) sous l'hypothèse stipulant que les inerts $X_{U,Inf}$ restaient non biodégradables en anaérobie. Pour des boues secondaires, la digestion a été bien simulée pour les 40 premiers jours sous la même hypothèse. Cependant, après 40 jours, les valeurs simulées (VSS, COD) étaient supérieures aux valeurs mesurées et plus de CH_4 a été enregistré. L'introduction d'une constante de dégradation exprimant une digestion additionnelle du X_E ($b_E = 0.0075 \text{ d}^{-1}$) permettait de bien simuler l'expérience (Figure 2.19). Une étude subséquente (Jones et al., 2008) montrait également que la digestion anaérobie de boues activées produites dans un système de réacteur biologique séquentiel induisait une certaine biodégradabilité du résidu endogène X_E pour des SRTs supérieurs à 30 d.

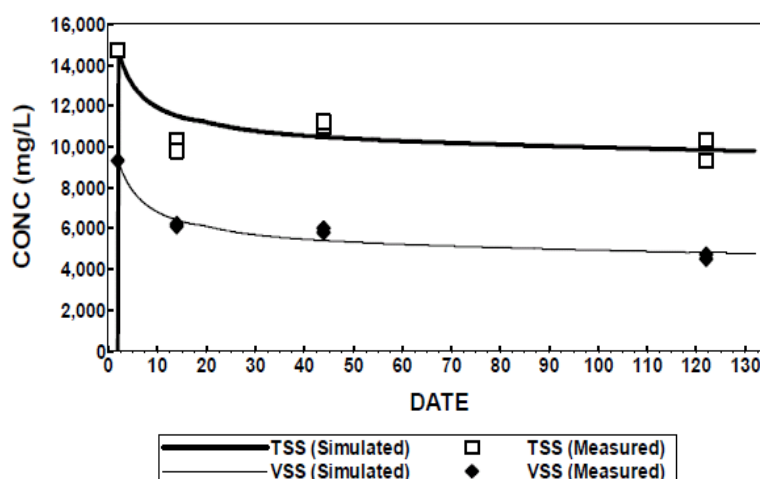


Figure 2.19 - Simulation des VSS et TSS avec un taux de dégradation du résidu endogène de 0.0075 d^{-1}

La cinquième étude recensée portait sur la modélisation du procédé Cannibal[®] (Johnson et al., 2008). L'étude suggérait des modifications dans les modèles ASMs : remplacement de la variable d'état X_I regroupant les fractions particulières non biodégradables par deux nouvelles variables (une pour le résidu endogène X_E et une autre pour les organiques non biodégradables de

l'affluent $X_{U,Inf}$) et l'intégration d'un processus d'hydrolyse du résidu endogène en substrat particulaire lentement biodégradable X_B en cas de digestion anaérobie.

2.5.4 Digestion de boues et mécanismes de destruction des floccs bactériens

Les travaux de l'équipe du professeur John Novak (*Virginia Polytechnic Institute, USA*) portant sur la composition des floccs bactériens en termes de biopolymères et de cations, suite à une digestion aérobie ou anaérobie de boues activées, viennent ajouter quelques éléments pour la compréhension des mécanismes mis en jeu dans chaque type de digestion. Dans une première étude (Higgins and Novak, 1997) portant sur le rôle des cations mono et divalents dans les systèmes de boues activées, il a été montré que l'ajout de Ca^{2+} et Mg^{2+} augmentait la quantité d'EPS liées aux floccs bactériens, par contre l'ajout de Na^+ jouait un rôle inverse. Un modèle de bioflocculation a été proposé à cet effet. Selon ce modèle, les protéines *lectine-like* lient les polysaccharides aux protéines adjacents. Les cations divalents rapprochent également les sites chargés négativement sur les biopolymères extracellulaires mais assure aussi la stabilité du réseau des EPS et l'activité des protéines *lectine-like*. Dans une étude subséquente (Novak et al., 2003), un mécanisme de destruction des floccs bactériens suite à des digestions anaérobie et anaérobie de boues activées a été proposé. Au terme d'une digestion aérobie, les biopolymères qui sont mis en solution sont de type polysaccharides avec plus de Ca^{2+} et Mg^{2+} . Par contre après une digestion anaérobie, plus de protéines sont solubilisées avec augmentation de Fe^{2+} . Dans deux études de la même équipe portant sur l'étude de la digestibilité de boues activées (Park et al., 2006a; Park et al., 2006b), les auteurs montraient que les boues contenant plus de fer dans leurs floccs présentaient des enlèvements de VSS plus importants. Alors que par digestion aérobie, les boues contenant plus de Ca^{2+} et Mg^{2+} montraient des rendements de digestion plus élevés. Dans un autre article publié récemment pour la même équipe (Novak et al., 2007), le mécanisme de destruction des floccs bactériens proposé dans (Novak et al., 2003; Park et al., 2006a) a été suggéré pour expliquer la réduction de la production de boues dans le procédé Cannibal[®].

Les travaux de l'équipe de Novak laissent penser qu'une faible production de boues sera obtenue en maximisant la solubilisation des EPS formant la matrice des floccs bactériens. Cette solubilisation est d'autant plus importante si les boues activées sont soumises à une alternance de conditions aérées et non aérées (aération intermittente).

2.6 Ozonation et production de boues

2.6.1 Pouvoir oxydant de l'ozone

L'ozone est un gaz dont la stabilité en milieu aqueux est relativement plus importante que dans l'air. Toutefois, cette stabilité demeure de l'ordre de quelques minutes. La solubilité de l'ozone est gouvernée par la loi de Henry pour les gaz dissous (Metcalf & Eddy, 2003). La structure chimique de l'ozone lui confère toutes les propriétés d'un oxydant puissant (Doré, 1989; Metcalf & Eddy, 2003). En effet, l'ozone a un potentiel électrochimique de 2.08 V (voir Tableau 2.12 (Metcalf & Eddy, 2003)).

Tableau 2.12 - Comparaison du potentiel électrochimique des principaux agents oxydants

Agent oxydant	Potentiel électrochimique d'oxydation (V)
Fluor	3.06
Radical hydroxyle	2.80
Oxygène atomique	2.42
Ozone	2.08
Peroxyde d'hydrogène	1.78
Hypochlorite	1.49
Chlore	1.36
Dioxyde de chlore	1.27
Oxygène moléculaire	1.23

Selon Doré (1989), l'ozone peut réagir avec des composés organiques et inorganiques selon deux modes réactionnels (Figure 2.20) :

- **Mode direct** : selon lequel l'ozone moléculaire oxyde directement d'autres composés chimiques. Ce mode est sélectif et est lié aux structures de résonance de la molécule d'ozone. Ainsi, trois schémas d'actions ont été identifiés pour le mode direct (Doré, 1989): la **cycloaddition** avec des molécules à chaînes carbonée insaturée $C=C$, la réaction **électrophile** avec des sites à haute densité électronique tels que les composés aromatiques et la **réaction nucléophile** avec des sites à orbitale vacante tels que des sites de type $C=N$;

- **Mode indirect** : est assuré par des entités radicalaires formées suite à la décomposition de l'ozone dans l'eau sous l'effet de : l'introduction d'ions hydroxydes (augmentation du pH), la présence du peroxyde d'hydrogène ou la photolyse par des radiations UV. Cette décomposition a été décrite en trois étapes dans (Doré, 1989) tel qu'il est illustré sur la Figure 2.21. Les réactions du mode indirect ne sont pas sélectives et ont un pouvoir d'oxydation élevé surtout pour les radicaux libres de type OH^\bullet ayant un potentiel électrochimique plus élevé que l'ozone (2.80 V, Tableau 2.12).

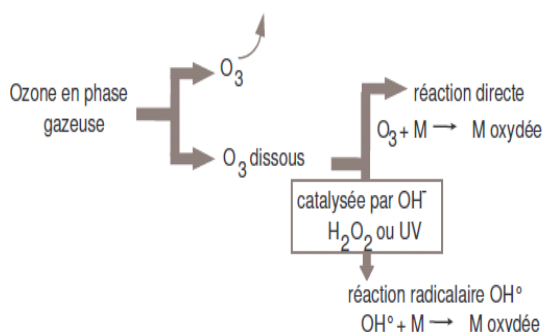


Figure 2.20 - Modes réactionnels de l'ozone (Délérès, 2001)

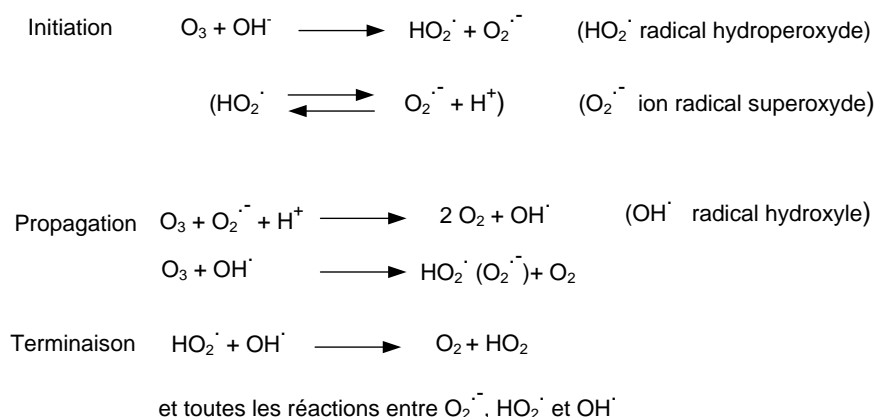


Figure 2.21 - Étapes du mode réactionnel indirect de l'ozone (Doré, 1989)

Jusqu'à présent, les informations recueillies de la littérature portent essentiellement sur la réactivité de l'ozone avec des substances chimiques isolées ou issues d'un milieu peu complexe. L'exploitation du pouvoir oxydant de l'ozone a été faite et se trouve relativement bien documentée dans le domaine de l'eau potable pour des fins de désinfection ou d'enlèvement d'autres substances polluantes (organique et inorganique). Concernant, l'utilisation de l'ozone pour le traitement des boues activées, les utilisations concrètes ont commencé il y a à peine deux

décennies ou un peu plus mais les développements théoriques restent encore peu avancés considérant la grande hétérogénéité du milieu (eaux usées, boues).

2.6.2 Ozone et traitement de boues

Les études portant sur l'ozonation de boues ont été focalisées principalement sur des aspects tels que le développement de procédés efficaces et leur optimisation en termes de dosages d'ozone à appliquer (Ahn et al., 2002; Bohler and Siegrist, 2004; Déléris et al., 2002; Déléris et al., 2000; Yasui and Shibata, 1994), l'étude de l'effet de l'ozone sur les propriétés des boues activées (Déléris, 2001; Zhao et al., 2007) et l'utilisation de l'ozone comme prétraitement de boues préalablement à leur digestion anaérobie (Battimelli et al., 2003; Bougrier et al., 2007; Goel et al., 2003; Weemaes et al., 2000a). Les résultats de quelques études sont résumés dans le Tableau 2.13.

Tableau 2.13 - Résultats sur quelques études incluant une étape d'ozonation de boues activées

Étude	Conditions/Effet	Référence
Effet de l'ozone sur la production de boues	- Production nulle de boues pour un dosage de 0.05 g O ₃ / g TSS avec une recirculation du 1/3 de la masse alimentant le bassin d'aération - Effluent réels : Réduction de boues de 62 à 100 %	(Yasui et al., 1996; Yasui and Shibata, 1994)
Ozonation d'une mixture de boues primaires et secondaires	- Réduction de VSS augmentait avec la dose d'O ₃ - Solubilisation de VSS : 41, 55 et 72 % pour des doses de 0.03, 0.07 et 0.14 g O ₃ / g TSS respectivement - Digestion de boues ozonées en anaérobiose: Augmentation de méthane de 58, 72 et 25 % pour les mêmes doses respectivement - Sur base de la COD dégradée, l'ozonation améliore la digestion anaérobiose par : 54, 64 et 47 % pour les mêmes doses respectivement	(Weemaes et al., 2000b)
Effet de l'ozone sur des boues secondaires déjà digérées en anaérobiose	- Doses: 0 à 0.18 g O ₃ / g TSS - Solubilisation des boues augmentait avec la dose en O ₃ (un max. de 52.5%) - Dose optimal: 0.16 g O ₃ / g TSS avec 22% de réduction de TSS	(Battimelli et al., 2003)
Effet d'un prétraitement à l'O ₃ sur la digestion anaérobiose de boues	- Doses: 0.015 à 0.05 g O ₃ / g TSS ont été appliquées à pH de 2 - Solubilisation: 19 et 37 % à ces doses respectivement - À 0.05 g O ₃ / g TSS : Réduction de TSS de 29, 23 et 28% pour une digestion anaérobiose à des SRTs de 7, 14 et 28 d	(Goel et al., 2003)
Effet d'une ozonation intermittente sur la réduction de boues	- Dose: 0.06 g O ₃ /g TSS - Réduction de la production de boues : 50%	(Kamiya and Hirotsuji, 1998)
Effet d'une ozonation partielle sur les boues activées	- Dose : 0.5 g O ₃ /g TSS - Solubilisation : 60%	(Scheminski et al., 2000)
Développement d'un procédé de faible production de boues	- Dose: 0.05 g O ₃ /g VSS - Réduction de la production de boues : 70%	(Délérès et al., 2002)

La synthèse de l'information quant à l'action de l'ozone sur des boues activées ne permet pas de déterminer une dose optimale universelle. Tout dépend de la nature des boues, du mode d'ozonation (fréquence), de l'âge des boues dans ces systèmes, etc. À titre indicatif, les fractions particulières X_E et $X_{U,Inf}$ ne sont pas les mêmes dans toutes les stations d'épuration. La demande en ozone pour attaquer ces composantes diffère dès lors pour chaque station.

Concernant les modes de réactivité de l'ozone avec les composantes des liqueurs mixtes, il semble que la voie moléculaire (direct) qui est la plus concernée (Délérès et al., 2002). Les conditions de pH utilisés dans les systèmes de boues activées conjuguées à la présence de pièges

à radicaux (bicarbonates, sulfates, phosphates, etc.) constituent des obstacles quant au développement de la voie radicalaire.

Par ailleurs, les mécanismes décrivant la réactivité de l’ozone avec les composantes des boues activées restent mal identifiés. En effet, une liqueur mixte présente un environnement hétérogène où le soluble est mélangé au particulaire et au colloïdal dans des proportions différentes et selon des tailles de particules assez diversifiées. Toutefois, l’ozone agit sur ces composantes de deux façons : solubilisation et minéralisation (CO_2). L’action solubilisante est la plus recherchée dans le traitement des boues afin de faciliter la désintégration et l’hydrolyse des composantes particulaires et la consommation des sous-produits d’ozonation par la suite de façon biologique. L’action minéralisante se produit à fortes doses d’ozone et demeure non justifiée économiquement (Délérès, 2001). Cependant, les demandes en ozone des fractions X_E et $X_{U,Inf}$ semblent être plus importantes que celle de la biomasse active X_H . Le couplage d’un système d’ozonation à un système de boues activées opéré à un SRT élevé permettrait de cibler au mieux les fractions X_E et $X_{U,Inf}$.

Dans une étude portant sur la compétition des fractions particulaires et solubles pour l’ozone (Cesbron et al., 2003), aucune relation préférentielle de type classique n’a pu être établie. En plus de facteurs tels que la concentration et la réactivité des substances particulaires avec l’ozone, l’étude révélait aussi l’effet de la taille des particules comme élément important pour leur pénétration dans le film liquide-gaz.

CHAPITRE 3 DÉMARCHE DE L'ENSEMBLE DU TRAVAIL DE RECHERCHE ET ORGANISATION GÉNÉRALE DE LA THÈSE

Cette thèse de doctorat comporte 9 chapitres et 7 annexes. Après un chapitre introductif (1) présentant le contexte global de la thèse, la problématique, les hypothèses scientifiques originales et les objectifs de la recherche, le second chapitre vient présenter une revue de littérature synthétisant les travaux et études qui traitent des mécanismes de production de boues dans les systèmes de boues activées, des solutions proposées pour minimiser leur génération ainsi que celles dédiées particulièrement à la biodégradation du résidu endogène. Le présent chapitre (3) donne la démarche de l'ensemble du travail et l'organisation générale de la thèse. Les autres chapitres ont été aménagés selon le plan suivant :

- Le chapitre (4) présente les travaux sur l'étude de l'effet d'un long temps de rétention de solides sur la biodégradation du résidu endogène dans des tests réalisés en cuvée sous des conditions anaérobies et de fermentation intermittente, la température a été optimisée dans ces tests pour accélérer la cinétique de dégradation. Les résultats obtenus ont été présentés dans l'article 1 de cette thèse. L'interprétation des résultats obtenus a été réalisée en se basant sur les informations théoriques disponibles, notamment en ce qui a trait à la quantification des fractions composant la matrice des VSS dans les boues générées (biomasse active hétérotrophe (X_H) et résidu endogène (X_E)). Le modèle de respiration endogène (Dold, 2007) décrit par deux paramètres essentiels (taux de respiration endogène de la biomasse hétérotrophe ($b_H = 0.24 \text{ d}^{-1}$ à 20°C) et fraction s'accumulant en tant que résidu endogène ($f = 0.20$)), a été utilisé pour quantifier les fractions active et endogène dans les boues générées ainsi que pour estimer le pourcentage de dégradation du résidu endogène dans les tests de digestion réalisés dans l'article 1.
- Le chapitre (5) porte sur la caractérisation chimique et biochimique des fractions biologiques (X_H et X_E) composant les boues synthétiques utilisées tout au long de ce projet. Cette caractérisation vient combler le manque d'information dans la littérature qui ne fait pas une réelle distinction entre ces deux composantes, plus particulièrement quant à leurs compositions chimiques (ratios typiques COD/VSS, ISS/TSS, N/VSS, P/VSS,

etc.) et biochimiques (contenu en substances polymériques extracellulaires EPS). Les ratios typiques sont très importants pour les travaux de modélisation. En effet, une bonne quantification de la concentration des VSS (boues générées) est assurée par une bonne conversion des COD en VSS pour les fractions particulières (X_H et X_E) surtout dans les systèmes opérés à des temps de séjour très longs. Dans de tels systèmes, la composante endogène devient prépondérante et le fait de simuler les modèles avec le même ratio COD/VSS pour les deux composantes conduit certainement à une fausse estimation des VSS dans les simulations. En parallèle, la caractérisation des deux composantes en termes de substances polymériques extracellulaires (EPS) permet de comprendre le comportement des boues lorsqu'elles sont soumises à des conditions de digestion aérobies, anaérobies ou alternées mais aussi de déterminer la nature des sous-produits de digestion et d'apprécier leur biodégradabilité. Les résultats obtenus ont été intégrés dans l'article (2) et ont été utilisés par la suite dans les différentes simulations réalisées dans le cadre de ce projet;

- Le chapitre (6) porte sur la réévaluation des paramètres du modèle de respiration endogène pour un système de boues activées alimenté en acétate. Les résultats ont été intégrés dans l'article (3) de cette thèse. Ces paramètres sont : le rendement cellulaire de la biomasse hétérotrophe (Y_H), le taux de respiration endogène (b_H), la fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f) ainsi que le taux de dégradation du résidu endogène (b_E). Ce dernier paramètre n'a jamais été considéré dans la littérature étant donné que le résidu endogène X_E était considéré une composante non biodégradable. La littérature concernant les paramètres Y_H , b_H et f indique de grandes écarts concernant les valeurs considérées par les auteurs pour ces paramètres (Dold, 2007). Ainsi, la réévaluation de ces paramètres pour un système alimenté en acétate vient affiner la qualité des simulations développées dans ce projet surtout en ce qui a trait à la quantification du pourcentage de X_E dégradé et à la détermination de son taux de dégradation (b_E). En effet, les paramètres du modèle de mort-régénération adoptés dans la majorité des logiciels de modélisation des systèmes de boues activées dont BioWin® sont calculées en fonction des paramètres du modèle de respiration endogène. Cependant, ces derniers sont plus faciles à déterminer de point de vue expérimental;

- Le chapitre (7) porte sur l'étude de l'effet d'une rétention complète de solides sur la biodégradation du résidu endogène dans une unité de digestion recevant une alimentation quotidienne en boues activées à caractéristiques uniformes. Dans cette étude, l'effet du mode de digestion (aérobie, fermentation intermittente) sur la dégradation du résidu endogène a été investigué. En parallèle, l'effet de la température sur le taux de dégradation du résidu endogène a été déterminé. Une attention particulière a été accordée à la caractérisation des sous-produits de digestion. Le travail présenté dans l'article 1 (chapitre 4) a été réalisé dans des tests en cuvée et les résultats ont été interprétés sur des bases théoriques pour les paramètres du modèle de respiration endogène. Ces tests indiquaient une cinétique lente de dégradation du résidu endogène et suggéraient des digestions à un temps de rétention de solides très long sous des conditions de fermentation intermittente. Dans l'article 4 (chapitre 7), les résultats des articles précédents (1, 2 et 3) ont été exploités sur le plan expérimental mais aussi dans les modélisations. Les tests ont été réalisés dans une unité de digestion membranaire (MDU) qui exploite le pouvoir des membranes pour l'accumulation et la rétention des boues. Cette façon de procéder permettait d'augmenter dynamiquement le temps de rétention des boues et offrait de meilleures conditions d'hydrolyse et de dégradation des VSS.
- Le chapitre (8) de cette thèse est consacré à une synthèse et une discussion globale de l'ensemble des travaux réalisés dans cette thèse.
- Des conclusions et recommandations sont présentées dans le chapitre (9).

L'Annexe 1 présente une synthèse sous forme de tableaux portant sur les prétraitements de boues utilisés pour améliorer leur digestion. Une description détaillée du plan expérimental par objectif spécifique est présentée à l'Annexe 2. Une description complète du système membranaire utilisé dans le cadre de ce projet pour générer les boues ayant servi pour toute la phase expérimentale est présentée dans l'Annexe 3. Les méthodes d'analyses non usuelles utilisées dans ce projet sont décrites dans les Annexes 4 à 6. Des résultats complémentaires portant sur la réalisation d'un objectif spécifique optionnel de cette thèse qui visait l'étude de la dégradation chimique du résidu endogène sous l'effet de l'ozone, sont présentés dans l'Annexe 7. Ces résultats complémentaires ont été intégrés dans un article rédigé conjointement avec Marc-André Labelle (étudiant au

Doctorat). Cet article, publié dans *Water Science and Technology*, présente également des résultats sur l’ozonation de la biomasse hétérotrophe X_H .

CHAPITRE 4 BIODEGRADATION OF THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE

Abdellah Ramdani^{a,*}, Peter Dold^b, Stéphane Déléris^c, Daniel Lamarre^d, Alain Gadbois^d, Yves
Comeau^a

^a Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Ecole Polytechnique of Montreal,
P.O. Box 6079, Station centre-ville, Montreal (Quebec) H3C 3A7, Canada

^b EnviroSim Associates Ltd., 7 Innovation Drive Suite 205, Flamborough (Ontario) L9H 7H9,
Canada

^c Anjou Recherche, Veolia Environment, BP79, Chemin de la Digue, 76 400, Maisons-Laffitte,
France

^d John Meunier Inc., 4105, Sartelon Street, Saint-Laurent (Quebec) H4S 2B3, Canada

*Corresponding author. Tel.: +1 514 340 4711 (ext. 3966); Fax: +1 514 340 5918.

E-mail address: abdellah.ramdani@polymtl.ca

Cet article a été publié dans la revue *Water Research* en 2010, volume 44, numéro 7, pp. 2179-2188

Abstract

This study evaluated the potential biodegradability of the endogenous residue in activated sludge subjected to batch digestion under either non-aerated or alternating aerated and non-aerated conditions. Mixed liquor for the tests was generated in a 200 L pilot-scale aerobic membrane bioreactor (MBR) operated at a 5.2 days SRT. The MBR system was fed a soluble and completely biodegradable synthetic influent composed of sodium acetate as the sole carbon source. This influent, which contained no influent unbiodegradable organic or inorganic materials, allowed to generate sludge composed of essentially two fractions: a heterotrophic biomass X_H and an endogenous residue X_E , the nitrifying biomass being negligible (less than 2%). The endogenous decay rate and the active biomass fraction of the MBR sludge were determined in 21-day aerobic digestion batch tests by monitoring the VSS and OUR responses.

Fractions of X_H and X_E : 68% and 32% were obtained, respectively, at a 5.2 days SRT. To assess the biodegradability of X_E , two batch digestion units operated at 35°C were run for 90 days using thickened sludge from the MBR system. In the first unit, anaerobic conditions were maintained while in the second unit, alternating aerated and non-aerated conditions were applied. Data for both units showed apparent partial biodegradation of the endogenous residue. Modeling the batch tests indicated endogenous residue decay rates of 0.005 d⁻¹ and 0.012 d⁻¹ for the anaerobic unit and the alternating aerated and non-aerated conditions, respectively.

Keywords: Activated sludge; endogenous residue; aerobic digestion; anaerobic digestion; biodegradation; modeling.

4.1 Introduction

The activated sludge process is the most commonly used method for biological wastewater treatment of both municipal and industrial effluents. In this process, organic and inorganic pollutants are transformed into acceptable end-products and treated water can be discharged to the receiving environment. A significant amount of excess activated sludge (containing more than 99% water) is generated in this process, however. The treatment and disposal of this sludge are expensive and accounts for up to 60% of the total operating costs of wastewater treatment plants (Canales et al., 1994; Low and Chase, 1999; Wei et al., 2003). Reducing sludge production in wastewater treatment plants thus presents an obvious economic interest.

Earlier studies dealing with aerobic and anaerobic digestion of activated sludge studied ways to design and optimize processes aimed at stabilizing the active heterotrophic biomass (X_H) fraction of the activated sludge. Solids degradation usually was the most important parameter used to evaluate the efficiency of aerobic and anaerobic digestion processes. The effect of these processes on the degradation of each organic fraction of the activated sludge, however, was rarely investigated. Furthermore, it is generally considered that the inactive organic fractions of sludge (unbiodegradable influent organic matter $X_{U,Inf}$ and endogenous residue X_E) do not undergo transformation in such digestion processes.

The objective of this work was to study the potential biodegradation of endogenous residue X_E under either anaerobic conditions or under alternating aerated and non-aerated conditions. To target X_E in this investigation, a biological sludge was developed in an activated sludge system fed with synthetic and completely soluble and biodegradable influent.

A concise review is first presented about the endogenous residue in activated sludge systems, the mathematical models describing its generation, the composition of the mixed liquor in activated sludge systems fed with municipal influent and with soluble and completely biodegradable synthetic influent, the theoretical considerations for the active fraction determination in activated sludge systems, and a summary of earlier studies dealing with the biodegradation of X_E .

4.1.1 Endogenous residue in activated sludge systems

Ordinary heterotrophic biomass (X_H) utilizes readily biodegradable substrate S_S for growth according to Monod kinetics in an activated sludge system, not limiting in oxygen (Grady et al., 1999; Metcalf & Eddy, 2003). More complex substrates (e.g. particulate organics) first must be hydrolyzed into this S_S substrate prior to being metabolized. Endogenous respiration (including decay, lysis, maintenance, and predation) of the heterotrophic biomass results in the generation of an endogenous residue X_E . Two models are commonly used in the literature to describe the microbial processes governing the generation of the endogenous residue (Fig. 4.1): the endogenous respiration model of McKinney (1960) and the death-regeneration model of Dold et al. (1980). The latter approach was proposed to account for modeling biomass decay in anaerobic zones of nutrient removal systems where no electron acceptor (oxygen or nitrate) is available. In the first approach, a fraction $(1-f)$ of the active biomass is oxidized to provide maintenance energy for the remaining microorganisms. With this oxidation, a fraction (f) of the decayed biomass remains as non biodegradable particulate material, X_E . In the death-regeneration model, a fraction of the decayed biomass becomes a bio-available substrate to the active organisms and the remaining fraction accumulates in the system as an endogenous residue, X_E (Dold et al., 1980). This second approach considers the cryptic growth of a new biomass on the by-products of decayed microorganisms; that is, regeneration.

Mathematical formulations of the microbial processes related to each model are similar (Fig. 4.1). In these differential equations, two important parameters are considered: a decay rate and an endogenous residue fraction, (b, f) and (b', f') . By expressing and equating the consumption of dissolved oxygen in each model approach, the equivalence between (b, f) and (b', f') can be established (Fig.4.1). Thus, no matter which model is considered to describe the generation of the endogenous residue, the net amount of X_E resulting from the consumption of one COD unit of substrate S_S , remains the same.

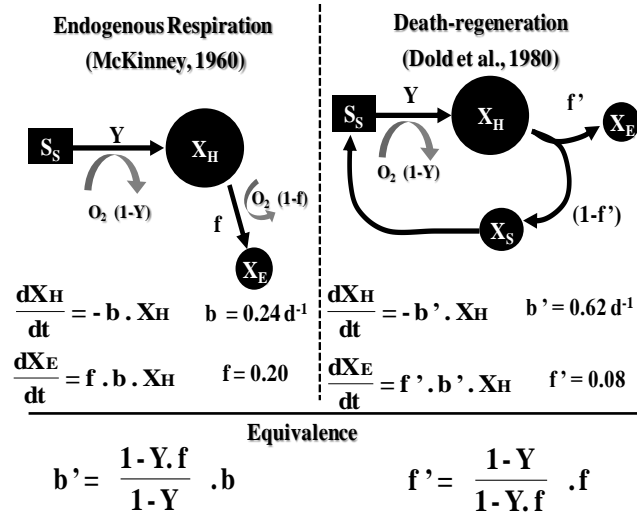


Figure 4.1 - Mathematical models for biomass decay: endogenous respiration and death-regeneration

4.1.2 Mixed liquor composition in activated sludge

The organic portion of the sludge generated in wastewater treatment plants (WWTPs), measured commonly as volatile suspended solids (VSS), is mainly composed of three particulate portions: the active biomass (heterotrophic X_H and autotrophic X_A), the influent non biodegradable portion $X_{U,Inf}$ and the residue produced from endogenous respiration X_E . $X_{U,Inf}$ and X_E generally are considered to be unbiodegradable in the activated sludge process (Figure 4.2 a). The proportions of the components of the VSS depend mainly on the solids retention time (SRT) of the system and the X_U content of the influent.

Consider a system with a soluble completely biodegradable influent. The composition of the VSS is then reduced to two particulate portions: X_H and X_E (Figure 4.2 b). In such a system, inorganic suspended solids (ISS) are associated with the inorganic content of X_H and X_E .

From an experimental point of view, the second system with a sole carbon source such as acetate allows one to target the endogenous residue and to study its fate under aerobic, anaerobic or alternating aerated and non-aerated conditions. Considering that the nitrifying biomass is negligible, it becomes possible to evaluate the proportion of the endogenous residue in the mixed liquor VSS of such system operated at steady state once the active fraction is determined ($X_E \approx \text{VSS} - X_H$).

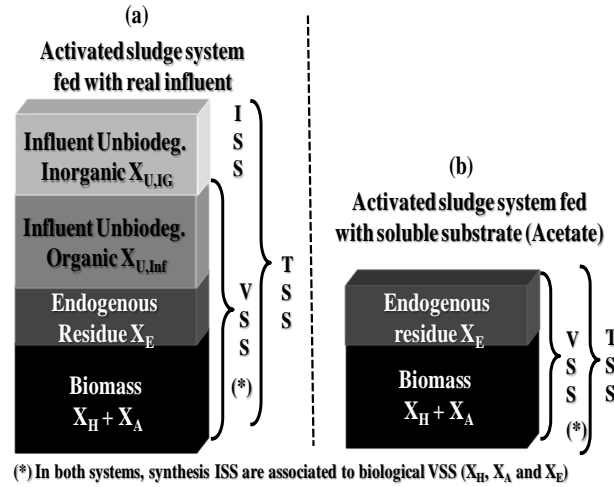


Figure 4.2 - Mixed liquor composition in activated sludge systems

4.1.3 Determination of endogenous decay rate and mixed liquor components

The endogenous decay rate (b) and the X_H and X_E components of the mixed liquor VSS can be quantified from the analysis of the response in batch tests where mixed liquor undergoes aerobic digestion for a period of say 20 days. Two analysis methods can be used, based on monitoring the change of either the VSS or the oxygen uptake rate (OUR) with time. [In either case, the decay rate estimate (b) is independent of the endogenous residue fraction (f). However, the X_H estimate requires an assumption of the endogenous residue fraction (f). In this study an f value of 0.20 has been assumed (Dold et al., 1980)].

NOTE: In the VSS-based and OUR-based methods, the units of X_H are mg VSS/L and mg COD/L respectively.

- **VSS-based method:** The decay of active biomass X_H in aerobic digestion is considered to be a first order with respect to X_H as shown in equation (4.1) (Grady et al., 1999; van Haandel and Lubbe, 2007).

$$\frac{dX_H}{dt} = -b \cdot X_H \quad (4.1)$$

where:

X_H = VSS concentration of the active biomass (mg/L);

b = endogenous decay constant (d^{-1});

By integration, if $X_H(0)$ is the concentration at the start of the aerobic digestion test, X_H at time t is:

$$X_H(t) = X_H(0) \cdot e^{-b \cdot t} \quad (4.2)$$

The VSS at time t can be expressed by noting that, from time zero to time t , the amount of active biomass disappearing is $[X_H(0) - X_H(t)]$ and a fraction f of this amount remains as endogenous residue. This leads to equation (4.3):

$$VSS(t) = VSS(0) - (1 - f) \cdot [X_H(0) - X_H(t)] \quad (4.3)$$

where:

$VSS(t)$ = VSS concentration at time t (mg/L);

$VSS(0)$ = VSS concentration at time 0 (mg/L);

f = endogenous residue fraction (-).

After an extended time of digestion (for example, 20 days at 20°C), the remaining amount of X_H becomes negligible (less than 1% of the initial value) and the VSS concentration of the digested sludge reaches an ultimate value, VSS_u ; from equation (4.4):

$$VSS_u = VSS(0) - (1 - f) \cdot X_H(0) \quad (4.4)$$

By combining the equations (4.2), (4.3) and (4.4):

$$VSS(t) = VSS_u + (1 - f) \cdot X_H(0) \cdot e^{-b \cdot t} \quad (4.5)$$

Once VSS_u is measured, the b and $X_H(0)$ values can be determined using nonlinear regression to fit equation (4.5) to the observed VSS *versus* time data. Similarly, a plot of $\ln[VSS(t) - VSS_u]$ *versus* time should yield a straight line of slope b with an intercept of $\ln[(1-f) \cdot X_H(0)]$ from which the value of $X_H(0)$ can be estimated. The active fraction of the VSS at the start of the aerobic digestion test, F_A , is given by dividing the $X_H(0)$ estimate by $VSS(0)$:

$$F_A = \frac{X_H(0)}{VSS(0)} \quad (4.6)$$

- **OUR-based method:** In aerobic digestion oxygen is consumed in the endogenous decay process. Also, nitrification of nitrogen available from biomass decay usually occurs, with its associated oxygen demand.

Based on the endogenous respiration model, a portion $(1-f)$ of the decaying biomass is oxidized. The carbonaceous oxygen uptake rate (cOUR mg O₂/L/d) is:

$$\begin{aligned} \text{cOUR}(t) &= -(1-f) \cdot \frac{dX_H}{dt} \\ &= (1-f) \cdot b \cdot X_H(0) \cdot e^{-b \cdot t} \end{aligned} \quad (4.7)$$

In the aerobic digestion test if there is complete nitrification of all the lyzed nitrogen from decay [assuming a biomass N content of f_N (≈ 0.07 mg N/mg COD)], the associated nitrogenous oxygen uptake rate is:

$$\text{nOUR}(t) = 4.57 \cdot f_N \cdot (1-f) \cdot b \cdot X_H(0) \cdot e^{-b \cdot t} \quad (4.8)$$

The total oxygen uptake rate is obtained by summing cOUR and nOUR:

$$\text{OUR}(t) = (1-f) \cdot (1 + 4.57 \cdot f_N) \cdot b \cdot X_H(0) \cdot e^{-b \cdot t} \quad (4.9)$$

The b and $X_H(0)$ values can be determined using nonlinear regression to fit equation (4.8) to the observed OUR *versus* time data. Similarly, a plot of $\ln[\text{OUR}(t)]$ *versus* time should yield a straight line of slope b with an intercept of $\ln[(1-f) \cdot (1+4.57f_N) \cdot b \cdot X_H(0)]$ from which the value of $X_H(0)$ can be estimated (units of mg COD/L). The active fraction of the VSS at the start of the aerobic digestion test, F_A , is given by dividing the $X_H(0)$ estimate by the COD of the particulate material in the mixed liquor at the start of the test.

$$F_A = \frac{X_H(0)}{\text{Particulate COD}} \quad (4.10)$$

4.1.4 Potential biodegradability of X_E

A literature review on the potential biodegradability of the endogenous residue X_E yields very limited information and there is no general consensus between authors. The hypothesis of degradation of the "unbiodegradable" fractions $X_{U,Inf}$ and X_E under anaerobic conditions was first proposed by Araujo et al. (1998). These authors studied the effect of the active fraction of sludge

on the removal of VSS in anaerobic digestion. They produced a series of biological sludges with different active fractions by aerobically digesting the same initial activated sludge in a series of aerobic digesters operated at different SRTs. The resulting sludges were then digested anaerobically in a series of anaerobic digesters (SRT of 20 d, temp of 25°C). Results from the study showed a relationship between VSS removal and the active fraction of sludge. By extrapolating the curve, the authors determined an intercept value of 15% VSS removal corresponding to a null active fraction (0.0). They attributed this value of anaerobic digester VSS removal to the degradation of $X_{U,Inf}$ and X_E .

A review by Ekama et al. (2007) of the work of Araujo et al. (1998) was presented on the basis of theoretical calculations according to the model of (Sotemann et al., 2005). Ekama et al. (2007) suggested that X_E and $X_{U,Inf}$ are not biodegraded under anaerobic conditions. These authors then presented their own experimental results on anaerobic digestion of activated sludge at 37°C and a 60 day SRT. The results agreed with the theoretical calculations of (Sotemann et al., 2005) and (Dold et al., 1980). The conclusion of this study was that the organic fractions of activated sludge that are non biodegradable under aerobic conditions remain non biodegradable under anaerobic conditions.

A third study was conducted by (Jones et al., 2007) using anaerobic batch digestion tests to determine the ultimate biodegradability of primary sludge and waste activated sludge. Tests were conducted for a duration of 123 days. For primary sludge (no X_E), the digestion was simulated accurately (changes in VSS, COD and CH_4 generation) assuming that the $X_{U,Inf}$ fraction remained non biodegradable. For anaerobic digestion of waste activated sludge, the simulated behaviour matched the observed data reasonably for the first 40 days of digestion. However, after 40 days, simulated values of VSS and COD were found to be higher than those observed experimentally, and CH_4 production was underpredicted (i.e. VSS destruction was slightly higher than that predicted by the model). The introduction of a first order decay rate for X_E (0.0075 d^{-1} at 35°C) resulted in a good fit between simulated and observed parameters. In a subsequent study, Jones et al. (2008) also showed that the anaerobic digestion of activated sludge from sequencing batch reactors (operated at 2, 4 and 15 day SRTs) indicated slow biodegradation of the endogenous residue X_E .

In aerobic activated sludge systems, the only study on the biodegradation of X_E was presented by Laera et al. (2005). In that investigation, the authors operated an MBR system with pre-settled and 1 mm screened municipal wastewater. Solids were not wasted from the system aside from small volumes for analysis. Results from this study showed that the MBR system reached 'equilibrium' conditions after 180 days; that is, from day 180 to 330 the parameters TSS, VSS and ISS all remained relatively constant. This seems incongruous, at least for ISS; if the influent contained ISS (i.e. sand) and solids were retained in the system, then an increase in ISS would be anticipated. Over the 'equilibrium' period the effective organic loading rate was very low (0.07 ± 0.01 g COD. g VSS⁻¹.d⁻¹). To explain the long term behaviour of their system, the authors suggested that the "unbiodegradable" fractions of the activated sludge were degraded.

4.2 Material and Methods

4.2.1 Synthetic influent and activated sludge

The activated sludge used in this investigation was produced in a 200 L pilot-scale aerobic membrane bioreactor (MBR). The MBR system, using a Zenon hollow fiber membrane module (ZW10, pore size of 0.04 microns), received a soluble and completely biodegradable synthetic influent with sodium acetate as the sole carbon source. The submerged membrane system prevented any loss of suspended solids to the effluent and was used to produce sludge with constant characteristics in terms of sludge retention time (SRT), total and volatile suspended solids (TSS, VSS), X_H and X_E . Synthetic influent had the following characteristics: flow of 445 L/d, COD of 360 mg/L, TKN of 26.6 mg N/L and Pt of 6.35 mg P/L. This influent contained all the necessary chemical elements for the biomass growth: macroelements (Ca, Mg, K, Fe, S) and microelements (Mn, Co, Mo, Al, F, B, Cu, I, Zn). Dissolved O₂ was maintained in the MBR at 7 to 8 mg O₂/L and pH was controlled at 7.3 with 6M HCl solution.

The MBR system was operated at a 5.2 day SRT and at relatively long HRT (11.7 hours) to minimize membrane biofouling. At the head of the MBR system, an anoxic selector (17.5 L) was installed to prevent filamentous bacteria proliferation. Hydraulic cycles for filtration and backwash were set to 5 minutes; 4.5 min for permeation and 0.5 min for backwash. Chemical

cleaning with sodium hypochlorite was performed approximately every 6 weeks when the transmembrane pressure reached the value of 50 kPa.

The activated sludge produced in the MBR system had the following characteristics: TSS of 938 ± 24 mg /L; VSS of 865 ± 22 mg/L; colloids ($0.04 \mu\text{m} < \text{size} < 1.2 \mu\text{m}$ and measured as total solids) of 28.7 ± 2.6 mg/L; OUR of 25.2 ± 0.5 mg $\text{O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; observed yield (Y_{obs}) of 0.22 ± 0.01 mg VSS/ mg COD.

Determination of the endogenous decay rate and the active fraction of the VSS was performed in tests using a 2 L aerobic batch digester following the two methods described in section 4.1.3. OUR measurements were performed by taking 300 mL of aerobic digester sludge (7.5 ± 0.5 mg O_2 / L) to fill a 300 mL-BOD glass bottle which was closed to atmospheric air, mixed with a magnetic bar, provided with an oxygen probe and placed on a stirring plate. The slope of the dissolved oxygen decrease with time gave an OUR measurement at a various times of digestion. The contents of the BOD bottle were returned to the batch digestion after each OUR measurement.

4.2.2 Experimental setup

To assess the potential biodegradability of X_E , two batch digestion units were operated at 35°C for 90 days using thickened sludge from the MBR system (TSS of 1650 mg/L, VSS of 1525 mg/L and total COD of 2295 mg/L). In the first unit, anaerobic conditions were maintained; alternating aerated and non-aerated conditions were applied in the second one (Figure 4.3). The experimental setup was similar for the two units except for the aeration cycle of 2 hours/day applied only to the second one. Each New Brunswick Fermentor unit had a 2 L working volume and Bioflo 100 modules to monitor and control oxygen, agitation, temperature and pH. An ORP probe (Pt4805-DPA-SC-S8, Mettler Toledo) was installed in each unit to monitor the ORP profile. A very sensitive oxygen probe (Inpro 6900, Mettler Toledo) of high accuracy (range ppb) was introduced in the unit with alternating aerated and non-aerated conditions to follow the O_2 profile. The dissolved oxygen concentration attained after 2 hours of aeration was not the same over the duration of the experiment since the concentration of active biomass was decreasing. During the first 35 days, dissolved oxygen concentration reached values varying from 0.4 to 2.5 mg O_2 /L. After 35 days, air was not supplied by diffusion but by varying the mixing speed (60 rpm to 150 rpm). In this case, the dissolved oxygen concentration reached 2 to 3 mg/L after 2

hours of high speed mixing. After 63 days of operation, gaseous nitrogen was supplied 22 hours/day at a very low flow rate to prevent oxygen entrainment during the non-aerated period in the unit with alternating aerated and non-aerated conditions. The pH was maintained in the range of 7.0-7.5 in both units by adding sodium bicarbonate (salt) when pH decreased to 7.0. The two units were sampled once a week until day 42 of digestion, then on days 63 and 90. The inner surfaces of the two units were brushed twice a week to prevent biofilm formation. Limited sampling volumes were taken from each unit and deionised water was added once a week before sampling to compensate for any evaporation.

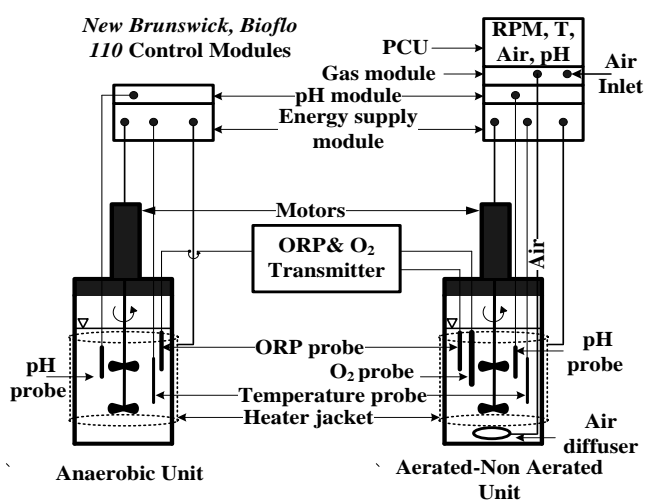


Figure 4.3 - Experimental setup of batch digestion tests

The monitored parameters were total and soluble COD, total and volatile suspended solids, volatile fatty acids and polysaccharides and proteins at the end of the experiment (day 90). Filtered COD was performed both with 1.2 μm and 0.45 μm filters to assess the evolution of colloidal material over time. The first measurements of TSS and VSS were done on day 28.

4.2.3 Analytical methods

Most of the analyses were performed according to the Standard Methods (APHA et al., 2005). For the MBR system characterization, nitrogen and phosphorus species were analysed by a Flow Injection Analyzer Lachat Quick Chem methods: (TKN: 10-107-06-2D; NH_3 : 10-107-06-1K; NO_2 and NO_3 : 10-107-04-1O; total P: 10-115-01-1C; o-PO_4 : 10-115-01-1A). Two models of this apparatus were used: Quick Chem AE for TKN and total P and Quick Chem 8500 for NH_3 , NO_3

and NO_2 and o-PO_4 . COD measurements were performed using Hach tubes and a DR 2800 spectrophotometer.

Samples analysed for volatile fatty acids were filtered with $0.45\ \mu\text{m}$ membrane filters. $10\ \mu\text{L}$ of $6\text{N H}_3\text{PO}_4$ was added to $1.5\ \text{mL}$ of filtered sample to fill each $2\ \text{mL}$ chromatographic vial. These vials were refrigerated at 4°C before analysis to prevent any bacterial activity. Volatile fatty acids were analysed using a Varian CP-3380 gas chromatograph provided with CP-8200 autosampler and an FID detector (at 300°C). A selective capillary column (WCOT fused silica 25MXO, $32\ \text{mm}$ ID FFAP-CB) for free fatty acids was used to separate acetic, propionic and butyric acids. Oven temperature program was the following: 100°C maintained for 2 minutes, increased from 100°C to 200°C at regular steps of $20^\circ\text{C}/\text{min}$, and then maintained at 200°C for a total duration of 20 minutes.

Polysaccharides were analyzed using the colorimetric method of Dubois (1956). Proteins were analyzed according to the method of Hartree (Hartree, 1972).

4.3 Result and Discussion

4.3.1 MBR system for sludge generation

The MBR system operated at steady state for more than 6 months at an SRT of 5.2 days was used in this investigation to produce activated sludge with uniform characteristics in terms of TSS, VSS, X_H and X_E . Influent to this system contained no unbiodegradable organic or inorganic materials ($X_{U,Inf}$, X_{Ig}), so the mixed liquor volatile solids was composed of essentially heterotrophic biomass X_H and endogenous residue X_E . The nitrifier biomass content essentially was negligible. The stability of the system was checked by conducting weekly mass balances on flow, COD, nitrogen and phosphorus. Results of the balances during the six months of operation were as follows: flow balance (% mass out/mass in) - $99.5\ \% \pm 0.4$; COD mass balance - $98.4\% \pm 1.8$; nitrogen mass balance - $101.9\ \% \pm 2.0$; and phosphorus mass balance - $102.8\ \% \pm 1.1$.

The stability of the MBR system was also demonstrated in the results of the active fraction (F_A) tests conducted over the duration of the study (see below). The calculated F_A values were very consistent.

4.3.2 Decay rate, X_H and X_E in the MBR sludge

A total of 6 batch aerobic digestion tests, each of 21 days duration, were conducted to determine the endogenous decay rate (b) and the active fraction (F_A) of the MBR mixed liquor. The parameters were determined using the VSS-based method for all tests, and the OUR-based method was also applied in two tests. Table 4.1 gives a summary of the results (b , F_A , and $F_E = 1 - F_A$). [Because the mixed liquor solids consisted of essentially only active biomass (X_H) and endogenous residue (X_E), the endogenous fraction is also reported as $F_E = 1 - F_A$]. Note that the MBR sludge was concentrated in the last three experiments.

Batch tests were conducted at various controlled temperatures (20-26°C) to assess the effect of temperature on the decay rate constant b . To compare the estimated decay rate parameters from tests at different temperatures, an equivalent decay rate at 20°C (b_{20}) was calculated for each test based on the *Van't Hoff-Arrhenius* temperature correction $b_T = b_{20} * \theta^{(T-20)}$, with $\theta = 1.029$ (Dold, 2007). The average of the b_{20} estimates from all the tests was $0.237 \text{ d}^{-1} \pm 0.006$. This essentially matches the literature value of 0.24 d^{-1} (Dold, 2007).

The average of the F_A estimates from all the tests was 0.684 ± 0.008 .

Figure 4.4 presents measured and simulated parameters for one of the tests where both VSS and OUR were monitored ($T = 24^\circ\text{C} \pm 0.1$, $b_T = 0.272 \text{ d}^{-1}$, $F_A = 0.685 \text{ g } X_H/\text{g VSS}$).

A further check on the validity of the experimental data for tests with both VSS and OUR monitoring is provided by performing a COD mass balance on the data. A total of 2032 mg O_2/L was consumed during this test while 97.3 mg N/L of nitrate were generated (nitrite was below detection limit). Total CODs at the beginning and at the end of the test were 2861 mg O_2/L and 1352 mg O_2/L , respectively. By considering that 4.57 mg O_2 is consumed for each mg nitrate-N generated, the oxygen consumption for nitrification was evaluated to 445 mg O_2/L . Consequently, the oxygen used for the oxidation of X_H was 1587 mg O_2/L (2032-445). The sum of the final COD and the OUR component (1352+1587 = 2939) divided by the initial COD (2861) is 1.027; that is, an experimental COD mass balance of 102.7%.

Table 4.1 - Summary of determinations of the decay rate, active and endogenous fractions

VSS	T	b_T	b_{20}	F_A	F_E
mg/L	°C	d ⁻¹	d ⁻¹	gX _H /gVSS	gX _E /gVSS
<i>VSS-based method</i>					
863	20	0.233	0.233	0.694	0.306
875	22	0.252	0.238	0.678	0.322
845	25	0.287	0.249	0.685	0.315
1525	26	0.273	0.230	0.669	0.331
1960	24	0.272	0.243	0.685	0.315
1850	23	0.259	0.238	0.685	0.315
<i>OUR-based method</i>					
1960	24	0.263	0.235	0.683	0.317
1850	23	0.254	0.233	0.692	0.308
Mean			0.237	0.684	0.316
std			0.006	0.008	0.008

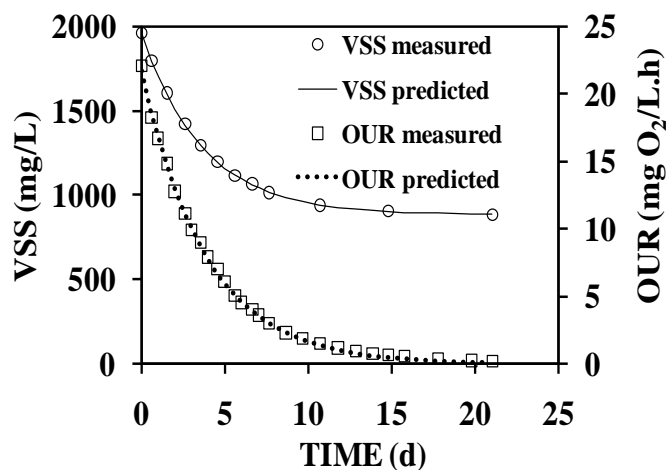


Figure 4.4 - Typical example of fitting predicted and measured VSS and OUR

To quantify the amount of nitrifying biomass in the MBR activated sludge, a simulation under BioWin 3[®] was run. Results from this simulation indicated that the autotrophic biomass represented about 2% of the mixed liquor VSS. Thus, the approximation $VSS \cong X_H + X_E$ was considered justified. (Note that the autotrophic biomass was considered in our modeling work [Section 4.3.5]).

4.3.3 VSS, COD and VFAs in the digestion units

Thickened activated sludge from the MBR system (VSS of 1525 mg/L, with 68% X_H and 32% X_E) was added to the two digestion units operated at 35°C. Figure 4.5 shows the change in residual VSS content of each unit over time as a % of the initial VSS. [Similar profiles were obtained from particulate COD results in both units (data not shown)]. The residual VSS after 90 days was 22.6% in the anaerobic unit and 16.4% in the alternating unit.

If no degradation of X_E occurred we would anticipate an endogenous fraction f (0.20) of the decaying X_H to add to the X_E ; that is, once all the X_H had decayed, X_E should account for $32 + 0.2 \cdot 68 = 45.6\%$ of the initial VSS.

The data indicate a slightly greater proportion of VSS (i.e. X_E) was degraded under alternating aerated and non-aerated conditions. This result suggests that the VSS degradation depends on the mode of digestion and is not the same under anaerobic and alternating anaerobic/aerobic conditions. Similar conclusions were reported by (Park et al., 2006a).

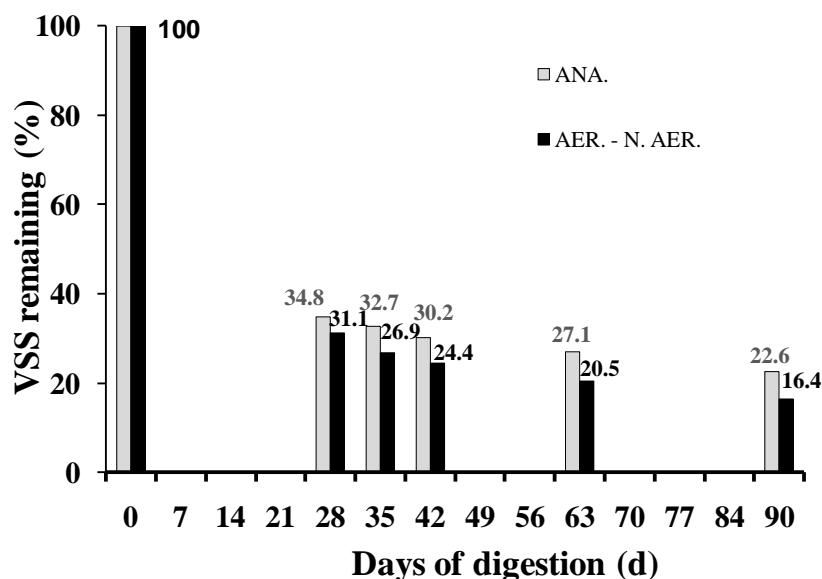


Figure 4.5 - Evolution of the % VSS remaining in the two digestion units

Production of VFAs occurred in both units mainly during the first days with about 200 and 20 mg COD/L of VFAs being measured at the end of the first week in the anaerobic unit and in the unit alternating aerated and non-aerated unit, respectively. VFA production decreased pH values and alkalinity was added as sodium bicarbonate to neutralize medium acidification. Acetic acid

constituted about 90% of the VFAs on a COD basis. More VFAs were measured in the anaerobic unit before the start-up of methanogenic activity (week one). By the end of the second week, VFAs were below 10 mg COD/L. In the unit with alternating aerated and non-aerated conditions, VFAs produced during the non-aerated period were partly consumed by the remaining heterotrophic biomass during the aerated cycle. In parallel, these VFAs constituted a source of readily biodegradable substrate for denitrification which took place in this unit when dissolved oxygen was depleted. Sulfate-reducing bacteria might also have competed for VFA consumption (not investigated in this study).

4.3.4 Soluble products of digestion

VSS degradation in the two units was accompanied by a release of colloidal material. To evaluate the size and nature of the filtered COD, samples of mixed liquor from both units were filtered using 1.2 μm and 0.45 μm filters. At the end of the 90 day test filtered samples were analyzed for polysaccharide and protein content. The evolution of the filtered material in terms of COD is presented in Figure 4.6. Results showed similar behavior in the two units. Filtered COD (1.2 μm and 0.45 μm) increased in the first week due to the generation of VFAs and the release of colloidal and soluble materials as result of bacterial floc matrix degradation. The filtered COD decreased over time until the fourth week in the unit with alternating aerated non-aerated conditions and the fifth week in the anaerobic unit. Decrease in filtered COD in the first weeks was attributed to the consumption of VFAs and biodegradable colloidal material. The filtered COD (1.2 μm and 0.45 μm) increased again in both units confirming that more particulate COD was being hydrolysed and solubilised. The major part of the particulate COD at this point of the digestion process presumably was X_E with a small proportion of active microorganisms. The observed increase in filtered COD can thus be attributed to the degradation of X_E . After the fifth week, the filtered COD decreased slowly with the consumption of colloids greater than 0.45 μm . At the end of the experiment, residual filtered COD was approximately the same in the two units, 84 mg COD/L (1.2 μm) and 79 mg COD/L (0.45 μm) for the anaerobic unit *versus* 75 mg COD/L (1.2 μm) and 70 mg COD/L (0.45 μm) for the unit with alternating aerated and non-aerated conditions.

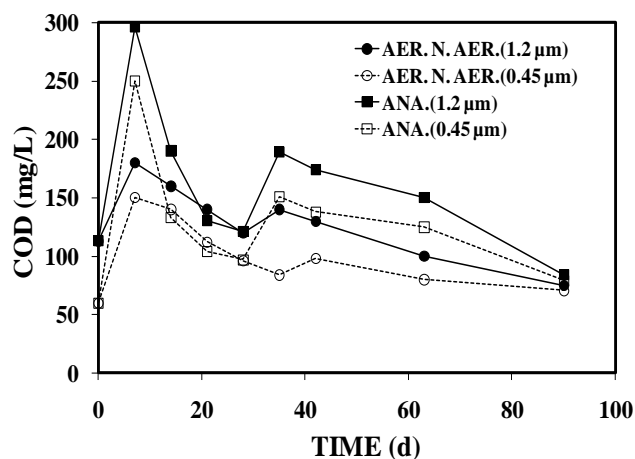


Figure 4.6 - Filtered COD evolution

The composition of the filtered COD at the end of the experiment is presented in Figure 4.7. Proteins and polysaccharides were the main components of the filtered COD with about 6 to 8% of unknown materials. Polysaccharides constituted 65% of the filtered COD in the unit alternating aerated and non-aerated conditions while proteins were more produced in the anaerobic unit representing 66% of filtered COD. This result is in agreement with the finding of (Novak et al., 2003) who reported that more polysaccharides are released during aerobic digestion and more proteins released during anaerobic digestion.

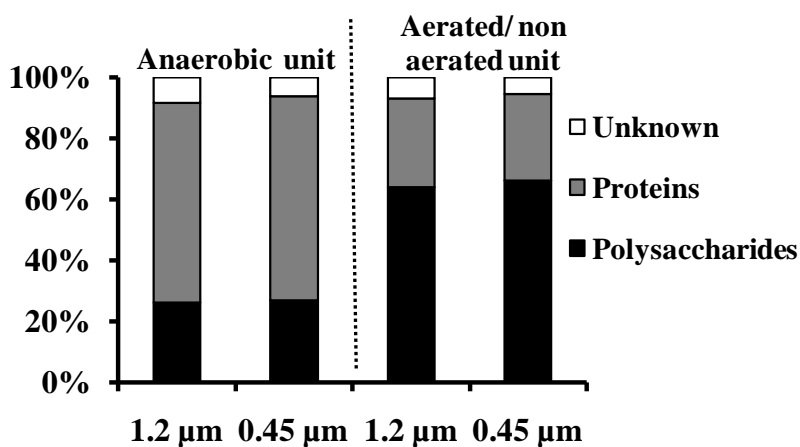


Figure 4.7 - Soluble end-products after 90 days

4.3.5 Modeling VSS and COD in the digestion units

The MBR system used to produce the activated sludge fed to the batch digestion units was first simulated using BioWin 3[®] to fit the observed parameters of the mixed liquor to those predicted (TSS, VSS, X_E , X_H , etc.). Mixed liquor from the MBR was thickened before being fed to the simulated digestion units to match the initial VSS and COD (1525 mgVSS/L and 2295 mgCOD/L) in the digestion units. Two modelling scenarios were then considered for each unit. The first one assumed that the endogenous residue produced in the aerated MBR system remained non biodegradable throughout the 90 days of digestion. The second one assigned a first order decay rate for the endogenous residue (b_{XE}) with conversion of endogenous residue to slowly biodegradable particulate substrate (X_B), and then to ready biodegradable substrate (S_S). Considering the presence of colloidal materials during the digestion process, it could be hypothesized that the endogenous residue is partly converted to colloidal material and/or to fermentable substrate.

Results from simulations of the two batch tests (Fig. 4.8A for the anaerobic system and Fig. 4.8B for the alternating unit) showed that if no degradation of the X_E was considered, the simulated and measured values of VSS and total COD deviated substantially from the observed data in both units. The difference becomes very evident from about 10 days in each test. By considering the degradation of the X_E as a first-order process in these tests, a good fit between observed and simulated VSS and COD was obtained. Endogenous residue decay constants (b_{XE}) of 0.005 d^{-1} and 0.012 d^{-1} were applied in the anaerobic unit and in the alternating aerated and non-aerated unit, respectively. (Jones et al., 2007) reported a slightly higher anaerobic decay constant of 0.0075 d^{-1} to simulate the decay of endogenous residue during batch anaerobic digestion of a real waste activated sludge. Our investigation showed slightly higher degradation of X_E by subjecting the activated sludge to alternating aerated and non-aerated conditions compared to conventional anaerobic digestion based on our results and those of Jones et al. (2007).

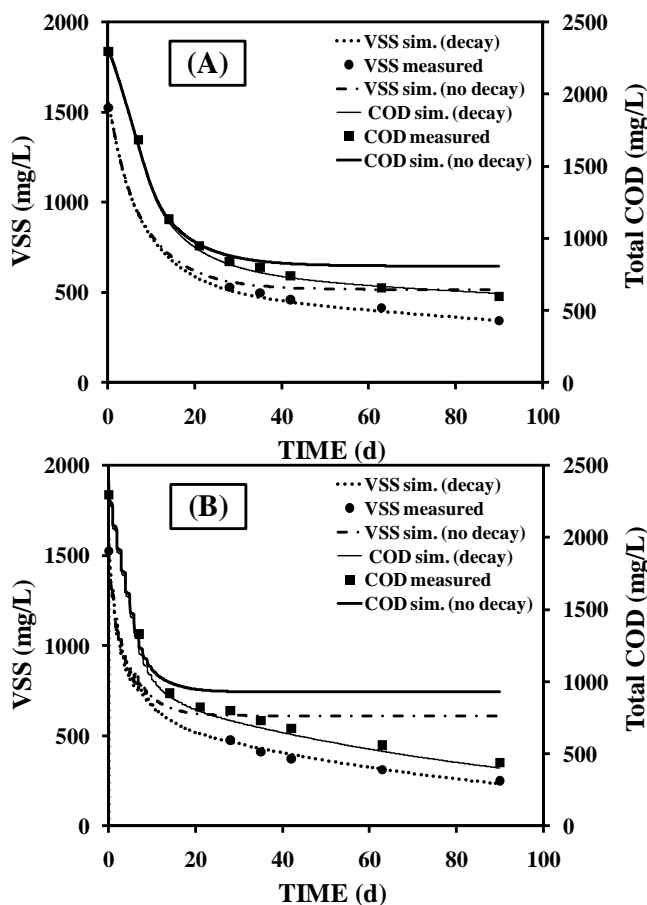


Figure 4.8 - Simulations of VSS and COD with and without X_E decay in the anaerobic unit (A) and in the alternating aerated and non-aerated unit (B).

4.3.6 Significance of results

4.3.6.1 Endogenous residue and extracellular polymeric substances

The VSS of mixed liquor measured in COD or VSS units is commonly fractionated by considering three organic components as described in the Section 4.4.2: active biomass (X_H and X_{ANO}), influent unbiodegradable organics $X_{U,Inf}$ and endogenous residue X_E (Metcalf & Eddy, 2003). Such fractionation is used in activated sludge models (ASMs) to quantify the sludge production for a given fully aerobic system. In these models, the endogenous residue is supposed to result only from the oxidation of biomass and is considered as a homogenous fraction. It has been reported, however, that the VSS matrix is partly composed of extracellular polymeric substances (EPS) originating from various microbial processes, notably biomass growth and lysis

and substrate utilization (Laspidou and Rittmann, 2002a; Liu and Fang, 2003; Raszka et al., 2006). In the ASM models, there is no specific component describing the presence of EPS in the VSS matrix (Henze et al., 2000). Thus, the COD portion of the VSS matrix related to these EPS should be perceived as an integral part of the active biomass and the endogenous residue in the ASM models since COD is a conservative parameter. This aspect was considered in the unified theory of Laspidou and Rittmann (2002b) who included in the VSS matrix an additional particulate component associated to the active biomass and the endogenous residue (bound EPS) but, it was difficult for the authors to evaluate the proportions of EPS bound to each of the components X_H and X_E . Bound EPS are considered to accumulate relative to X_H and since the decay rate (hydrolysis) of these EPS is considered to be lower than that of the active biomass, it was considered that a part of these EPS is included in the total inactive VSS (or unbiodegradable VSS) which, in this case, includes the endogenous residue and a part of the bound EPS. In this approach, only bound EPS are considered to be biodegradable (not the endogenous residue). In the unified theory, bound EPS are supposed to hydrolyze to biomass-associated products (BAP) and the active biomass is supposed to produce utilization-associated products (UAP) associated to substrate utilization. BAP and UAP are supposed to be biodegradable and are then recycled in the presence of an electron donor for the active biomass growth. To test their proposed model, the authors chose a set of parameters to correctly fit experimental data from the literature (Laspidou and Rittmann, 2002b).

In parallel to this unified theory, several models including EPS and/or soluble microbial products (SMPs) are presented and compared in the literature reviews of Jiang (2007) and Jiang et al. (2008): Boero et al. (1991, 1996), Orhon et al. (1989), Artan et al. (1990), Lu et al. (2001, 2002), Lee et al. (2002), Cho et al. (2003), Ahn et al. (2006). These literature reviews did not reach a general consensus on the way that EPS and SMPs are considered in these models to describe the relationship between these microbial products and the classical particulate and soluble fractions of the mixed liquor (X_H , X_E , etc.). In addition to the complexity of the structure of these models, a high number of parameters are used to describe the newly added microbial processes in these models and there are no standardized methods suggested for their determinations experimentally (stoichiometric and kinetic parameters, EPS and SMP composition, etc.).

In our investigation, the model General ASDM (Barker and Dold, 1997) integrated in BioWin 3[®] was used to describe the VSS matrix of activated sludge generated in our MBR system. As in the

classical ASM models, no EPS components were included in this model. Nevertheless, a good fit was obtained between observed and simulated COD and VSS values, first in the MBR system and second in the two digestion units by adding only one additional microbial process for the conversion of X_E to slowly biodegradable particulate substrate (X_B).

The chemical composition of the endogenous residue may be investigated by two approaches:

- Considering that the endogenous residue matrix is composed of a homogenous biodegradable material including a part of bound EPS and that the biodegradation of this material is occurring at very slow rate;
- Considering that the endogenous residue matrix is composed of a mixture of biodegradable and non biodegradable materials. In this case, the biodegradable fraction (such as bound EPS) is supposed to hydrolyze at a slow decay rate depending on its accessibility. The unbiodegradable fraction, conversely, would constitute an ultimate stable residue.

To our knowledge, little information about the composition of the endogenous residue is available and more research is recommended on this topic. Nevertheless, our results indicate that the biodegradation of the endogenous residue did take place in the two digestion units at a constant decay rate for a duration of 90 days. Based on these results, it could be hypothesized that the structure of the endogenous residue is homogenous enough to be considered as described in the first of the above approaches.

4.3.6.2 Extrapolation of results to full scale

In this study, activated sludge was generated from acetate as sole carbon source, a soluble synthetic and completely biodegradable influent (i.e. containing no inorganic or organic unbiodegradable materials). This approach allowed us to target on the endogenous residue and to evaluate its potential biodegradability. Results from batch digestion tests indicated that it was possible to biodegrade the endogenous residue at slow rate. It was also shown that alternating aerated and non aerated conditions resulted in a higher rate of biodegradation of X_E than strictly anaerobic conditions.

At full scale, activated sludge systems are fed with real influent containing particulate unbiodegradable material (organic and inorganic). These two fractions are undergoing no transformation in the treatment system and accumulate in the sludge as a direct function of the SRT and of their concentrations in the influent (Dold, 2007). Being able to separate or to reduce substantially these fractions from the activated sludge generated in the system would increase the

biological fractions in the sludge (high content of X_H and X_E). Physical separation of the unbiodegradable particulate fractions from activated sludge by hydrocycloning and microscreening has been proposed for this purpose (Johnson et al., 2008). Activated sludge undergoing such physical treatments will have a lower content of influent unbiodegradable materials, resulting in a higher X_H and X_E content, and will have a composition approaching that of the synthetic sludge generated in this study which could be digested under similar conditions (long SRT, higher temperature). By enhancing the biodegradation of the endogenous residue under such conditions, the biomass yield could be decreased significantly comparing with conventional activated sludge processes.

4.4 Conclusions

Activated sludge for this study was generated in an MBR system operated for more than 6 months at a steady state 5.2 day SRT with acetate as the only influent carbon source. The objective was to generate a well characterized sludge consisting essentially only of active biomass (X_H) and endogenous residue (X_E).

To assess the potential biodegradability of X_E , two batch digestion units were operated at 35°C for 90 days, starting with thickened sludge from the MBR system. In the first unit anaerobic conditions were maintained throughout, while in the second unit alternating aerated and non-aerated conditions were applied. Data for both units showed apparent slow biodegradation of the endogenous residue. Modeling the batch tests indicated first order endogenous residue decay rates of 0.005 d⁻¹ and 0.012 d⁻¹ for the anaerobic unit and the alternating aerated and non-aerated conditions, respectively. The impact of the degradation process was most evident after a prolonged sludge retention time in excess of about 20 days. The effect of temperature on the rate of X_E biodegradation remains to be determined.

Acknowledgements

The authors thank Denis Bouchard, technician at the Environment Engineering Laboratory (Ecole Polytechnique of Montreal) for his technical support. This work was funded by a Collaborative Research and Development (CRD) grant from the Natural Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC) in collaboration with John Meunier Inc., Veolia Environment, EnviroSim Associates Ltd., the City of Saint-Hyacinthe and by the Canadian Water Network.

CHAPITRE 5 CHARACTERIZATION OF THE HETEROTROPHIC BIOMASS AND THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE

Abdellah Ramdani^{a,*}, Peter Dold^b, Alain Gadbois^c, Stéphane Délérís^d, Dwight Houweling^b, Yves
Comeau^a

^a Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Ecole Polytechnique of Montreal,
P.O. Box 6079, Station centre-ville, Montreal (Quebec) H3C 3A7, Canada

^b EnviroSim Associates Ltd, McMaster Innovation Park, 175 Longwood Rd South, Suite 114A,
Hamilton (Ontario) L8P 0A1, Canada

^c John Meunier Inc., 4105, Sartelon Street, Saint-Laurent (Quebec) H4S 2B3, Canada

^d VERI, Veolia Environment, BP76, Chemin de la Digue, 76 400, Maisons-Laffitte, France

*Corresponding author. Tel.: +1 514 340 4711 (ext. 3966); Fax: +1 514 340 5918.

E-mail address: abdellah.ramdani@polymtl.ca

Cet article a été soumis à la revue *Water Research* le 22 février 2011

Abstract

The activated sludge process generates an endogenous residue (X_E) as result of heterotrophic biomass decay (X_H). A literature review yielded limited information on the differences between X_E and X_H in terms of chemical composition, content of extracellular polymeric substances EPS, etc.. The objective of this project was to characterize the endogenous and the active fractions of activated sludge in well designed experiments [elemental analysis, typical ratios (COD/VSS, N/VSS, P/VSS, etc.), chemical formulas and content on EPS]. To isolate X_H and X_E in this study, activated sludge was generated in a 200 L pilot-scale aerobic membrane bioreactor (MBR) fed with a soluble and completely biodegradable synthetic influent with sodium acetate as the sole carbon source. This influent, which contained no influent unbiodegradable organic or inorganic materials, allowed the generation of a sludge composed of essentially two fractions: heterotrophic biomass X_H and an endogenous residue X_E , the nitrifying biomass being negligible. The endogenous decay rate and the active biomass fraction of the MBR sludge were determined

in 21-day aerobic digestion batch tests by monitoring the VSS and OUR responses. Fractions of X_H and X_E were 68% and 32% in run 1 (MBR at 5.2 day SRT) and 59% and 41% in run 2 (MBR at 10.4 day SRT). The endogenous residue was isolated by subjecting the MBR sludge to prolonged aerobic batch digestion for 3 weeks, and was characterized in terms of a) elemental analysis for carbon, nitrogen, phosphorus and sulfur and of b) content of EPS. The MBR sludge was characterized using the same procedures (a and b). Knowing the proportions of X_H and X_E in this sludge, it was possible to characterize X_H by back calculation. Results from this investigation showed that the endogenous residue had a chemical composition different from that of the active biomass with a lower content of inorganic matter (1 to 4.2), of nitrogen (1 to 2.9), of phosphorus (1:5.3) and of sulfur (1 to 3.2) but a similar content of carbon (1 to 0.98). Based on these elemental analyses, chemical formulas for X_H and X_E were determined as $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$ and $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$, respectively. Data from EPS analyses also confirmed this difference in structure between X_E and X_H with an EPS content of 11 to 17% in X_E versus 26 to 40% in X_H .

Keywords: Activated sludge, heterotrophic biomass, endogenous residue, chemical composition, extracellular polymeric substances, modeling

5.1 Introduction

In activated sludge systems, heterotrophic biomass (X_H) and endogenous residue (X_E) are considered to be the primary components of mixed liquor solids generated from influent carbonaceous substrate removal. A literature review reveals little information on the differences between X_H and X_E with respect to composition and characteristics; however, it has been suggested that the endogenous residue contains less nitrogen and phosphorus than the active biomass (Takács, 2008; WERF, 2003). Ekama and Wentzel (2004) reported that the endogenous residue contains no synthesis inorganic suspended solids and a content in the active biomass of 0.15 g ISS/g VSS. These values are the result of calibrating mathematical models, not direct measurements using designed experiments. Very little comprehensive information on the differences between X_H and X_E exists in terms of chemical composition, typical ratios of COD/VSS, N/VSS, P/VSS, EPS content, and so on.

Research has also identified extracellular polymeric substances (EPS) as accounting for a portion of the mixed liquor VSS matrix. While not explicitly accounted for in models based on X_H and X_E , it has been proposed that EPS is generated during biomass growth, substrate utilization and decay processes (Laspidou and Rittmann, 2002; Raszka et al., 2006). It is of interest to determine how much EPS is associated with the particulate components X_H and X_E (Laspidou and Rittmann, 2002; Ramdani et al., 2010). This may help to explain the fate of these components in conventional activated sludge systems, in membrane bioreactor processes and in aerobic and anaerobic digesters, particularly when operated at high sludge retention times (SRTs).

The objective of this work was to characterize the endogenous and the active fractions of activated sludge (elemental analysis, typical ratios, chemical formula, and EPS content) using specifically designed experiments. To target X_H and X_E in this study, activated sludge was generated in a system fed with soluble, completely biodegradable substrate as outlined by Ramdani et al. (2010).

A short literature review is first presented about (a) the fractionation of mixed liquor suspended solids in activated sludge systems; (b) the importance of typical ratios in ensuring the integrity of mathematical models (ASM type) and developing the equations describing the continuity of conservative parameters in these models; (c) the role of the elemental analysis in closing mass balances with regard to chemical elements (C, H, N, O, P and S) in mathematical models; and (d) the importance of determination of the content of EPS associated with the particulate components X_H and X_E .

5.1.1 Biological fractions in activated sludge systems

Wastewater treatment by the activated sludge process involves various transformations (physical, chemical and biological) resulting in production of mineral and organic fractions of sludge. The organic portion of this sludge is commonly characterized as volatile suspended solids (VSS), and divided into three main components (Metcalf & Eddy et al., 2003): active biomass (mainly heterotrophic biomass, X_H , and a small proportion of autotrophic biomass, X_A), endogenous residue, X_E , and unbiodegradable particulate organic matter from the influent, $X_{U,Inf}$. The inorganic portion of the sludge (ISS) is mainly comprised of two components: inorganic matter

from the influent, X_{Ig} , and synthesis inorganic solids incorporated in the active biomass and possibly present in the endogenous residue. Precipitation in the activated sludge system may result in a third inorganic component depending on factors such as pH and metal ion concentrations. The total suspended solids (TSS) include all of these organic and inorganic fractions.

Central to most activated sludge models, based on either the endogenous respiration and death-regeneration approach, are the two components which are biological in origin: X_H and X_E (Dold, 2007; Ramdani et al., 2010). As a consequence, improving our understanding of the chemical composition of X_H and X_E would be of great benefit to better quantifying the behaviour of the activated sludge process (sludge production, oxygen demand, synthesis ISS, synthesis nitrogen and phosphorus requirements, nitrogen available for nitrification, phosphorus available for P removal, etc.).

A further consideration when quantifying the behaviour of the activated sludge process is how to model the influent unbiodegradable particulate organic matter ($X_{U,Inf}$). This component may contribute 25% or more of the VSS in the mixed liquor, depending on various factors including SRT and influent wastewater characteristics. In the widely used IWA models (Henze et al., 2000), $X_{U,Inf}$ and X_E have alternately been modelled as separate state variables (ASM1) or grouped into the same state variable (ASM2d, ASM3). Given that the origins of $X_{U,Inf}$ (hair, toilet paper, etc.) differ greatly from X_E which is generated as a result of the endogenous respiration of bacteria within the activated sludge (including decay, lysis, maintenance and predation) the composition and characteristics of these two components is likely very different. Moreover, recent studies have identified the slow biodegradability of X_E which may have consequences for the fate of X_E in systems operated at long SRTs (Jones et al., 2007; Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009; Ramdani et al., 2010). To better quantify the endogenous residue in such systems, it was proposed to replace the original state variable X_I in ASM2d by two state variables X_E and $X_{U,Inf}$. It was also proposed (Johnson et al., 2008) to use physical separation processes (hydrocycloning and microscreening) to reduce to a great extent the influent unbiodegradable inorganic and organic contributions to the activated sludge composition. Mixed liquor VSS of activated sludge undergoing such physical treatment would have a higher content of X_H and X_E thereby enhancing the biodegradation of the endogenous residue using digestion under alternating

aerated and non aerated conditions as proposed in Ramdani et al. (2010). Modeling of such system with high content of X_H and X_E requires an accurate characterization of X_H and X_E .

5.1.2 Continuity in ASM models: Typical conversion ratios

The basis for continuity in activated sludge models is the conservation of COD (Gujer and Larsen, 1995). Continuity equations for other conservative parameters, namely nitrogen and phosphorus, are expressed using typical ratios to account for the N and P composition of the activated sludge (N/COD, P/COD, etc.). Typical values for such ratios are provided for the IWA models in Henze et al. (2000). However, the authors indicate that many of these values were estimated but never experimentally verified. Better characterizations of the ratios of nitrogen and phosphorus (as well as ISS) in X_H and X_E is thus a good topic of research which could lead to improved model predictions of the effect of SRT on activated sludge process behaviour. For example, the relative proportions of X_H and X_E in activated sludge is dependent on the SRT: at longer SRTs the proportion of X_E will be greater than that of X_H . As a consequence, the error (deviation between simulated and observed data) due to assuming the same composition ratios for both X_H and X_E would be expected to become more significant in systems operated at high SRTs. Being able to determine more accurate ratios for the composition of X_H and X_E will help to refine simulation results of activated sludge systems (VSS concentration, synthesis ISS, nitrate generation, etc.).

5.1.3 Elemental analysis and continuity in mathematical models

Takács (2008) reported that COD-based models (ASM, ADM) in their current form do not close mass balances in terms of chemical elements: carbon, hydrogen, nitrogen and oxygen. The author suggested considering dissolved nitrogen gas, carbon dioxide and water as state variables to close elemental balances in these models. To adapt the existing ASM models to the elemental balancing approach, it was suggested to characterize all state variables used in mathematical models in terms of the most important chemical elements constituting the organic matter (C, H, N, O, P and S) found in wastewater (Metcalf & Eddy et al., 2003; Rittmann and McCarty, 2001). This new approach combined with the COD and nitrogen mass balances already used in mathematical models help refine the modelling results and ensure the continuity and conservation of the chemical elements (C, H, N, O, P and S). It is also suggested that this approach would also

help to interface and connect different models (ASM, ADM) as proposed in the method CBIM (Continuity-based interfacing of models) described in Vanrolleghem et al. (2005) and Volcke et al. (2006).

Available information on elemental characterization of X_H and X_E suggests further investigation is required, particularly for the endogenous residue X_E . Differences between the chemical composition of X_H and X_E are recognized (Takács, 2008; WERF, 2003) but there is little information on the following parameters related to these particulate components: COD/VSS, ISS/VSS, C/VSS, H/VSS, N/VSS, O/VSS, P/VSS and S/VSS.

5.1.4 Biological fractions and extracellular polymeric substances

The matrix of bacterial flocs constituting the activated sludge is composed of living microorganisms (mainly bacteria), inorganic precipitates (cations and anions) and other organic matter that is not biologically active (Frølund et al., 1996; Higgins and Novak, 1997; Jorand et al., 1995; Raszka et al., 2006; Rittmann and McCarty, 2001). This inactive organic matter is commonly characterized as extracellular polymeric substances (EPS) and accounts for many compounds originating from wastewater fed to the activated sludge system or generated during the growth, substrate utilization and decay processes (Laspidou and Rittmann, 2002; Raszka et al., 2006; Rittmann and McCarty, 2001). The main components of EPS are proteins and polysaccharides and in lesser proportions lipids, uronic and nucleic acids and humic and fulvic acids. In parallel to their role in bioflocculation and settlability of sludge, many functions between microorganisms and between microorganisms and their environment are performed using these EPS: communication between cells, acclimating to substrates, protection of microorganisms from some harmful and toxic situations, etc. (Laspidou and Rittmann, 2002; Raszka et al., 2006).

Typically, activated sludge models do not include any component accounting for the contribution of EPS to the activated sludge VSS. Rather, the contribution of EPS is assumed to be accounted for in the active (X_H) and the endogenous fractions (X_E) of the VSS matrix (Ramdani et al., 2010). As some recent studies have pointed out (see section 5.1.1) significant biodegradation of the endogenous residue may occur in activated sludge systems and digestion units operated at high SRTs. In these studies, the EPS content associated with the endogenous residue is potentially of great importance in explaining the biodegradability of this component. In their

unified theory, Laspidou and Rittman (2002) reported that the inactive biomass is constituted of 2 components: the endogenous products produced as result of the active biomass decay and part of the bound EPS generated by this biomass during the growth and substrate utilization. In fact, the authors suggested that bound EPS accumulate in activated sludge systems relative to the active biomass which decays with a kinetic that is faster than the hydrolysis of bound EPS. The consequence of this is that a part of the bound EPS remains associated to the inactive biomass and accounts for the endogenous residue. No experimental methods were proposed to determine the distribution of the EPS matrix between the active biomass and the endogenous residue in this theory, however. Furthermore, Laspidou and Rittman (2002) consider in their theory that only the EPS part of the inactive biomass is biodegradable and the *truly* endogenous products are considered to be unbiodegradable. Thus, the determination of the content of EPS associated to this inactive biomass may help to better understand the composition of the endogenous residue and to explain the fate of this component in the previous studies on biodegradability of X_E .

5.2 Materials and methods

5.2.1 Characterization of X_H and X_E

The steps followed in this study to characterize X_E and X_H are summarized in the functional block diagram of Figure 5.1. After a first step of reviewing the literature yielded little information on the characterization of X_E and X_H , an experimental methodology constituted of three actions was developed, as shown in Figure 5.1. Mixed liquor for this investigation was produced in a 200 L pilot-scale membrane bioreactor (MBR) fed with a soluble and completely biodegradable synthetic influent (acetate) as the sole carbon source (action 1, Fig. 5.1). This influent, containing no influent unbiodegradable materials (organic $X_{U,Inf}$ and inorganic X_{Ig}), resulted in generation of a sludge constituted of essentially 2 fractions: X_H and X_E (autotrophic biomass being negligible). More details about activated sludge systems fed with soluble substrate are presented in Ramdani et al. (2010). The MBR system was operated at steady state conditions and produced sludge with constant characteristics in terms of TSS, VSS, X_E , X_H and SRT. Different tests were performed on this sludge to determine: a) its chemical composition (C/VSS, N/VSS, P/VSS, S/VSS, ISS/VSS, VSS/TSS and COD/VSS), b) its chemical formula (type $C_\alpha H_\beta O_\gamma N_\eta P_\delta S$) and c) its content of bound EPS (by extraction). The second action (Fig. 5.1) consists of isolating the

endogenous residue by subjecting the MBR mixed liquor to prolonged aerobic batch digestion test for three weeks. The sludge resulting after such tests was almost entirely constituted of the endogenous residue fraction X_E , the active biomass X_H having been for the most part oxidized (Ramdani et al., 2010). A similar characterization (steps a, b and c) is realized on this 'pure' X_E . The third action was to determine the active fraction of the MBR sludge which allowed evaluating the proportions of X_H and X_E in the MBR sludge taking into account that the mixed liquor $VSS \approx X_H + X_E$. By combining results of characterization of the MBR sludge and those of the endogenous residue, it was possible to characterize the active biomass by retro-calculations considering the proportions of X_H (F_A) and X_E ($F_E = 1 - F_A$) in the MBR sludge.

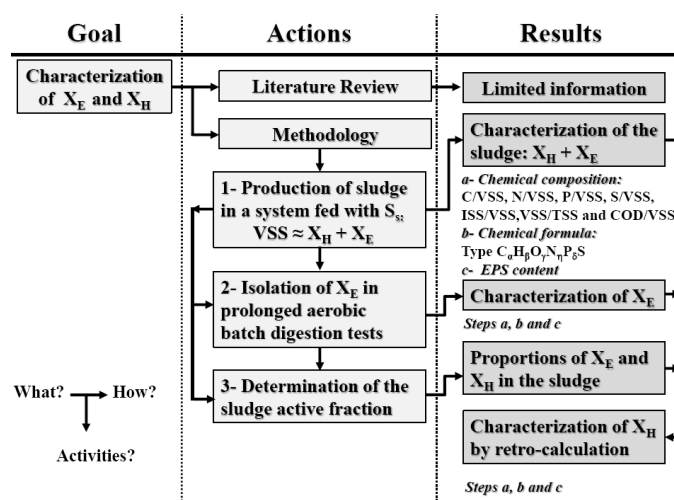


Figure 5.1 - Functional Block diagram of this study

5.2.2 MBR system, synthetic influent

A detailed description of the MBR system used for this investigation is provided in Ramdani et al. (2010). The synthetic influent fed to this system had the following average characteristics: flow of 445 L/day, COD of 360 mg/L, TKN of 26.6 mg N/L and TP of 6.35 mg P/L. A relatively long HRT of 11.7 hours was applied in this system to reduce to a great extent the biofouling of the membranes module. The characterization of the MBR sludge, X_E and X_H (action 1, 2 and 3, fig. 1) were performed at two different SRTs: 5.2 days (run 1) and 10.4 days (run 2). Note that the characterization of the EPS content was realized only in run 2.

5.2.3 Determination of the sludge active fraction

The active fraction of the MBR mixed liquor was determined in 21-days aerobic digestion batch tests by monitoring either VSS or OUR (oxygen uptake rate) response according to Ramdani et al. (2010). In this reference, detailed mathematical and experimental developments on how to perform and interpret such tests are presented. The equations used for the determinations of the active and the endogenous fractions are the following:

- **VSS-based method:**

The concentration of sludge VSS at a given time of digestion is given by equations (5.1) and the active fraction by equation (5.2).

$$VSS(t) = VSS_U + (1-f) * X_H(0) * e^{-b * t} \quad (5.1)$$

$$F_A = \frac{X_H(0)}{VSS(0)} \quad (5.2)$$

where:

$X_H(0)$ = VSS concentration of the active biomass at time zero (mg/L);

$VSS(t)$ = VSS concentration at time t (mg/L);

$VSS(0)$ = VSS concentration at time zero (mg/L);

VSS_U = VSS concentration at the end of the batch test;

b = Endogenous decay rate (d^{-1});

f = Endogenous residue fraction (-);

F_A = Active fraction of the MBR sludge (-).

- **OUR-based method**

The oxygen uptake rate is related to the active biomass at a given time of the batch digestion test by equation (5.3) and the active fraction is given by equation (5.4):

$$OUR(t) = (1-f) * (1 + 4.57 * f_N) * b * F_A * VSS(0) * e^{-b * t} \quad (5.3)$$

$$F_A = \frac{X_H(0)}{\text{Particulate COD}} \quad (5.4)$$

In these equations $X_H(0)$ is expressed in COD unit and f_N is the biomass nitrogen content (assumed to be ≈ 0.07 mg N/mg COD). Particulate COD refers to COD of the particulate material of the MBR sludge (time zero).

Note: in both methods, b and $X_H(0)$ are determined using non linear or linear regressions to fit observed and calculated VSS and OUR versus time (see Ramdani et al., 2010).

Once F_A is determined, the endogenous fraction of the MBR sludge F_E is calculated by:

$$F_E = 1 - F_A \quad (5.5)$$

5.2.4 Elemental analysis, typical ratios and chemical formula

- *Elemental analysis, typical ratios*

Elemental analysis on the MBR sludge ($X_H + X_E$) in terms of C, N and P was performed by analysing total organic carbon TOC, total Kjeldahl nitrogen TKN and total phosphorus TP for samples of wasted sludge. The content of the particulate fraction on C, N and P was determined by performing measurements on both unfiltered and filtered samples (using a $1.2 \mu\text{m}$ filter) as recommended in (WERF, 2003). For the element S, the analysis was directly realized on the solid fraction of previously lyophilized samples.

Typical ratios most commonly used in wastewater treatment and particularly in mathematical modeling works (COD/VSS, ISS/VSS, C/VSS, N/VSS, P/VSS and S/VSS) were then calculated for the MBR sludge considering COD, TSS and VSS measurements on the analysed samples.

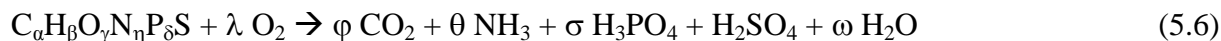
A similar elemental characterization was performed on the endogenous residue X_E obtained by subjecting the MBR sludge to prolonged aerobic batch digestion tests. For more accuracy in the analysis, the resulting endogenous residue was first concentrated by centrifugation to about 2000 mgVSS/L previous to any characterization.

- *Chemical formula*

It is possible to determine a chemical formula representative of a given particulate fraction of activated sludge by considering the most important chemical elements constituting the organic

matter found in wastewater (C, H, O, N, P and S). These elements are incorporated totally or partly in the biological fractions of activated sludge (X_H , X_E , X_A). In this work, chemical formula were first determined for the MBR sludge ($X_H + X_E$), then for the endogenous residue X_E and by retro-calculation for the active biomass X_H .

The technique used here constitutes an extension of the method presented in (Takács, 2008) limited to a chemical formula of CHON-type. In this investigation, the elements P and S were also considered, the general formula being $C_\alpha H_\beta O_\gamma N_\eta P_\delta S$. The determination of the proportions of the chemical elements C, H, O, N, P and S in this formula can be realized by considering a complete oxidation (type COD-test) of the organic matter (MBR sludge or X_E in our case) as described by the equation (5.6). The products of this reaction, expressed in their non ionic form, are: CO_2 , NH_3 , H_3PO_4 , H_2SO_4 and H_2O .



The variables (unknowns) to be determined are: α , β , γ , η , δ and λ . Six equations are needed to build a linear system with six unknowns: five equations are obtained by expressing the typical ratios: $I_{COD} = COD/VSS$, $I_C = C/VSS$, $I_N = N/VSS$, $I_P = P/VSS$ and $I_S = S/VSS$. A sixth equation is established by combining the various equations expressing the conservation of the elements C, H, O, N and P (trivial equation for S with a molar composition of 1).

Note: In the following equations, the symbols of chemical elements were used to indicate their molar weights to make the mathematical formalism more fluent.

Equations (mass ratios)

$$I_{COD} = COD/VSS = \frac{2*\lambda*O}{\alpha*C + \beta*H + \gamma*O + \eta*N + \delta*P + S} \quad (5.7)$$

$$I_C = C/VSS = \frac{\alpha*C}{\alpha*C + \beta*H + \gamma*O + \eta*N + \delta*P + S} \quad (5.8)$$

$$I_N = N/VSS = \frac{\eta*N}{\alpha*C + \beta*H + \gamma*O + \eta*N + \delta*P + S} \quad (5.9)$$

$$I_P = P/VSS = \frac{\delta * P}{\alpha * C + \beta * H + \gamma * O + \eta * N + \delta * P + S} \quad (5.10)$$

$$I_S = S/VSS = \frac{S}{\alpha * C + \beta * H + \gamma * O + \eta * N + \delta * P + S} \quad (5.11)$$

Conservation equations

$$\text{Element C: } \alpha = \varphi \quad (5.12)$$

$$\text{Element H: } \beta = 3 * \theta + 3 * \sigma + 2 + 2 * \omega \quad (5.13)$$

$$\text{Element O: } \gamma + 2 * \lambda = 2 * \varphi + 4 * \sigma + 4 + \omega \quad (5.14)$$

$$\text{Element N: } \eta = \theta \quad (5.15)$$

$$\text{Element P: } \delta = \sigma \quad (5.16)$$

The combination of the conservation equations (5.12) to (5.16) leads to the following equation:

$$4 * \alpha + \beta - 2 * \gamma + -3 * \eta + 6 * \delta - 4 * \lambda + 6 = 0 \quad (5.17)$$

System of equations

The rearrangement of equations (5.7) to (5.11) and (5.17) allows writing the linear system (5.18):

$$\left\{ \begin{array}{l} C * \alpha + H * \beta + O * \gamma + N * \eta + P * \delta - \frac{2 * O}{I_{COD}} * \lambda = -S \\ (1 - \frac{1}{I_C}) * C * \alpha + H * \beta + O * \gamma + N * \eta + P * \delta = -S \\ C * \alpha + H * \beta + O * \gamma + (1 - \frac{1}{I_N}) * N * \eta + P * \delta = -S \\ C * \alpha + H * \beta + O * \gamma + N * \eta + (1 - \frac{1}{I_P}) * P * \delta = -S \\ C * \alpha + H * \beta + O * \gamma + N * \eta + P * \delta = -(1 - \frac{1}{I_S}) * S \\ 4 * \alpha + \beta - 2 * \gamma - 3 * \eta + 6 * \delta - 4 * \lambda = -6 \end{array} \right. \quad (5.18)$$

The system of equations (5.18) is completely resolved once the following ratios are analytically determined: I_{COD} , I_C , I_N , I_P and I_S . In this study, the mathematical software Mathcad[®] version 14 (component of PTC[®]) allowing symbolic representations was used to solve this linear system.

The number of variables can be reduced in the system (5.18) depending on the analyzed elements (C, N, P and S) and the type of formula desired (CHON), (CHONP) or (CHONPS).

- ***Consequence : typical ratios and chemical formula for X_H***

Proportions of X_H and X_E in the MBR sludge were evaluated in the active fraction determination tests as described in 5.2.3. Given that the sludge used in this study is constituted of only two fractions (F_A of X_H and ($F_E = 1 - F_A$) of X_E), each typical ratio ($I_{COD} = COD/VSS$, $I_C = C/VSS$, $I_N = N/VSS$, $I_P = P/VSS$ and $I_S = S/VSS$) can be expressed as a linear combination of specific or individual ratios of X_H and X_E using the general formula:

$$R_S = F_A * R_H + (1 - F_A) * R_E \quad (5.19)$$

R_S , R_H and R_E denote, each time, one of the previous typical ratios for the MBR sludge ($X_H + X_E$), for the active fraction X_H and for the endogenous residue X_E respectively.

For example:

$$I_{COD} (\text{MBR sludge}) = F_A * I_{COD} (X_H) + (1 - F_A) * I_{COD} (X_E) \quad (5.20)$$

From the proposed experimental characterization, it is possible to determine I_{COD} (MBR sludge), $I_{COD} (X_E)$ and F_A . Then the value of the specific ratio $I_{COD} (X_H)$ can be derived from the equation above. All typical ratios for X_H can be calculated in this way and its chemical formula can be determined.

5.2.5 EPS extraction

Extraction of bound microbial EPS was performed following the protocol presented in Figure 5.2. Samples of MBR sludge and X_E were first centrifuged at 5 000 g for 15 minutes at 4°C to remove any residual soluble EPS. Two physical methods (Sonication, heating) and two chemical methods (formaldehyde + sodium hydroxide, Triton X-100) were used and compared for EPS extraction.

5.2.5.1 Sonication

Samples of MBR sludge and X_E were sonicated under similar conditions according to (Ras et al., 2008): ultrasounds at 37 W for two minutes repeated five times at five minutes intervals. Samples were kept at 4°C in an ice bath during sonication. A Vibra Cell sonication probe from Bioblock was used for ultrasounds treatment.

5.2.5.2 Heating

Extraction of EPS by heating was performed according to Comte et al. (2006). Samples of sludge and X_E were filed in closed tubes (capacity of 10 mL) and put in a heater block with temperature adjusted to 80°C for two minutes. Treatment was repeated five times at five minutes intervals.

5.2.5.3 Formaldehyde + sodium hydroxide

Extraction of EPS using the $CH_2O/NaOH$ method was performed according to (Liu and Fang, 2002). First, 0.06 mL of formaldehyde (37%) was applied per each 10 mL of MBR sludge or X_E samples. These samples were kept at 4°C for 1 hour before adding 4 mL of 1N solution of NaOH. Resulting samples were kept at 4°C for 3 hours. Treatment with $CH_2O/NaOH$ was repeated two times on the same sample. The pellet was previously washed twice in the buffer solution before EPS extraction.

5.2.5.4 Triton X-100

Extraction of EPS using Triton X-100 (0.5%) was realized according to (Gessesse et al., 2003). Solution of Triton X-100 (0.5%) was prepared in a buffer (0.5 mM KH_2PO_4 , 4.5 mM K_2HPO_4 , 10 mM NaCl, 2 mM KCl), adjusted to pH 8. Treatment with Triton X-100 was repeated two times on the same sample. The pellet was previously washed twice in the buffer solution before EPS extraction.

5.2.5.5 EPS measurements

After extraction of EPS using the above treatments, treated samples of MBR sludge and X_E were centrifuged at 15000 g for 15 minutes at 4°C and the supernatant was filtered using both 1.2 μm and 0.45 μm filters to separate the filterable products. These extracts were analysed for filtered COD (0.45 μm , 1.2 μm), proteins and polysaccharides. Note that during the chemical extraction methods (Triton X-100 and $CH_2O + NaOH$), control samples (reagent + sample equivalent volume of deionised water) were used to evaluate the yield and performances of EPS extraction.

Note that the characterization of EPS in the extracts from physical methods was performed at the end of the repeated treatments (five times) while it was done after each treatment for extracts originating from chemical methods.

5.2.5.6 Enzyme assays

To check if the extracts containing EPS were contaminated by cell lysis, the intracellular glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) activity was assayed according to (Lessie and Vander Wyk, 1972). 800 μL of substrate were added to 200 μL of EPS extract and incubated at room temperature. The absorbance values measured at 340 nm were recorded at regular time step for 30 minutes.

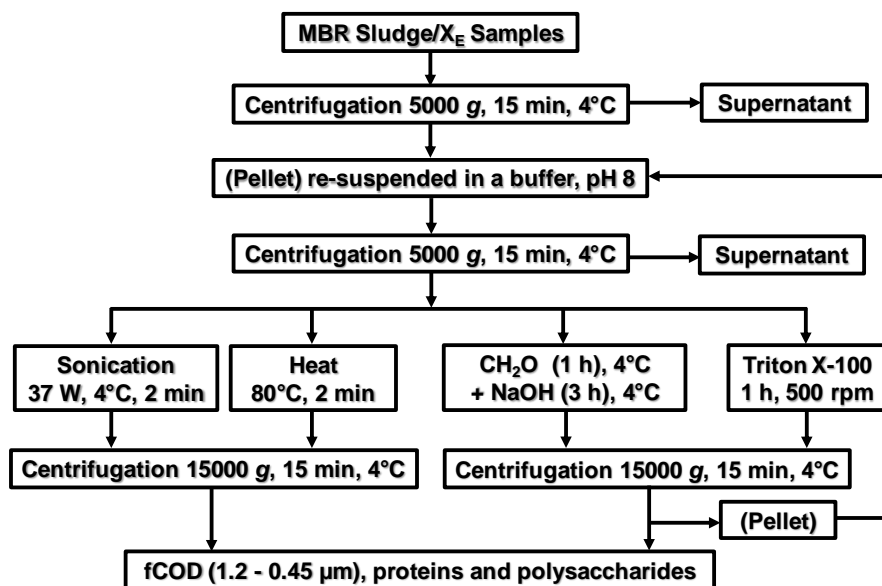


Figure 5.2 - Protocol for EPS extraction

5.2.6 Analytical methods

Most of the analyses were performed according to the standard methods (APHA et al., 2005). Nitrogen and phosphorus species were analysed by a *Flow Injection Analyzer Lachat Quick Chem* methods: (TKN: 10-107-06-2D; NH₃: 10-107-06-1K; NO₂ and NO₃: 10-107-04-1O; total P: 10-115-01-1C; o-PO₄: 10-115-01-1A). Two models of this apparatus were used: *Quick Chem AE* for TKN and total P and *Quick Chem 8500* for NH₃, NO₃ and NO₂ and o-PO₄. TOC was assessed by a *Total Organic Carbon Analyzer DC-190 (Folio Instruments Inc., Rosemount Dohrmann)*. Samples for sulphur analysis were first concentrated by centrifugation then lyophilized (*Labconco™ Freeze dry system Freezone 12*). The resulting particulate matrix was analysed for sulphur with a *Leco® (SC-400) spectrometer* which combines a direct combustion

of the sample (solid) to an infrared detection. COD measurements were performed using Hach tubes and a DR 2800 spectrophotometer.

Polysaccharides were analyzed according to the colorimetric method of (Dubois et al., 1956) using glucose for standards. 1 mL of sample was added to 1 mL of 5% (W/V) phenol solution. After a homogenisation using a laboratory vortex device, 5 mL of concentrated sulphuric acid (H_2SO_4) were added and resulting samples were incubated at 100°C for five minutes using a heater block. Proteins were analyzed using the bicinchoninic acid (BCA) method according to Smith et al. (1985). A Pierce[®] BCA protein assay kit was used (0.1 mL of sample was added to 2 mL of BCA working reagent, samples were then incubated at 60°C for 30 minutes using a heater block). Standards curve was developed with bovine serum albumin (BSA). Absorbance measurements were performed at 562 nm using a DR 2800 spectrophotometer. These measurements were made within 10 minutes (max.) after the incubation period since the BCA assay does not reach a true end point and the color continues to develop (as it is pointed out in the Pierce[®] BCA assay kit and was experimentally observed).

5.3 Results and discussion

5.3.1 Production of biological sludge ($X_H + X_E$)

To target on the biological fractions of activated sludge (X_H , X_E), an MBR system fed a soluble and completely biodegradable influent was used in this study for synthetic sludge production. Mixed liquor generated in such system operated at steady state conditions was composed of only two components: X_H and X_E considering that the nitrifying biomass was negligible. This system was operated at two different SRTs: 5.2 and 10.4 days, for more than 6 months each time. During the first run (5.2 days), the MBR sludge, X_E and X_H were characterized only for their chemical compositions (steps a and b, Fig. 5.1). In the second run (10.4 days), the content of EPS in these components was also determined.

The hollow fibre submerged membrane system offered complete suspended solids retention and was used to produce a sludge with constant characteristics in terms of sludge retention time and concentration of total and volatile suspended solids (TSS, VSS), X_H and X_E . The stability of these parameters was demonstrated by a characterization on a weekly basis (run 1) and a monthly basis (run 2) to determine the performance of the system (COD and Nitrogen removal) and to develop

hydraulic, COD, nitrogen and phosphorus mass balances (Table 5.1). Detailed equations of mass balances are presented in Appendix.

Table 5.1 - Performances of the MBR system and mass balances

		Run 1 (5.2 day-SRT)	Run 2 (10.4 day-SRT)
Solids	<i>TSS (mg/L)</i>	938 ± 24	1502 ± 21
	<i>VSS (mg/L)</i>	865 ± 22	1387 ± 19
Performances	<i>COD remov. (%)</i>	97.2 ± 0.3	97.5 ± 0.3
	<i>TKN remov. (%)</i>	95.7 ± 1.1	95.8 ± 0.4
Hydraulic&mass balances	<i>Hydraulic (%)</i>	99.5 ± 0.4	99.4 ± 0.3
	<i>COD (%)</i>	98.8 ± 1.4	100.9 ± 1.7
	<i>N (%)</i>	101.9 ± 2.0	98.6 ± 2.1
	<i>P (%)</i>	102.8 ± 1.1	98.6 ± 1.5

5.3.2 Proportions of X_H and X_E in the MBR system

During the first and the second runs, samples of mixed liquor generated in the MBR system were characterized for active fraction determination in 21 day batch aerobic digestion experiments. Over the whole period of the MBR system operation, six tests were performed for run 1 (5.2 day-SRT) and four tests for run 2 (10.4 days-SRT). The VSS-based method was used in all of these tests while the OUR-based method was applied in six of them (2 in run 1 and 4 in run 2). The most important parameters determined during these tests are the active fraction F_A and the endogenous decay rate b . The endogenous fraction F_E was then calculated as the remaining fraction ($F_E = 1 - F_A$) since the MBR sludge is constituted of essentially X_H and X_E . Results of determinations of b , F_A and F_E are summarised in Table 5.2. Since the aerobic batch digestion tests were performed at different temperatures (20-26°C), equivalent values of decay rate constants at 20°C (b_{20}) were calculated based on the *Van't Hoff-Arrhenius* law expressed by the following formula: $b_T = b_{20} * \theta^{(T-20)}$, where θ is assumed to be 1.029 (Dold, 2007). Results in Table 5.2 show average values for b_{20} of $0.237 \text{ d}^{-1} \pm 0.006$ and $0.231 \text{ d}^{-1} \pm 0.003$ for runs 1 and 2, respectively. This result is in agreement with the widely recognised value b_{20} of 0.24 d^{-1} reported in Dold, (2007). The average proportions of X_H and X_E (F_A , F_E) were shown to be $0.684 \text{ g } X_H/\text{g}$

VSS \pm 0.008 and 0.316 g X_E /g VSS \pm 0.008 in run 1 and 0.595 g X_H /g VSS \pm 0.010 and 0.405 g X_E /g VSS \pm 0.010 in run 2. The validity of these results was checked by performing COD mass balances on the data from tests performed following the OUR-based method: the COD at the beginning of the batch digestion test must be equal the COD at the end of the test (21 days) plus the COD consumed for the oxidation of X_H . The oxygen for oxidation of X_H is determined by the difference between the oxygen consumed during the whole period of the batch test and the oxygen used for nitrification of the released organic nitrogen. Oxygen consumed for nitrification was estimated assuming 4.57 mg O_2 consumed for each mg nitrate-N generated (For more details, see Ramdani et al., 2010). Values of COD mass balances were in average close to 100% (102.7 ± 0.2 and 98.1 ± 1.9 in run 1 and run 2 respectively).

Table 5.2 - Summary of determinations of the decay rate, active and endogenous fractions

	VSS (mg/L)	T (°C)	b_T (d ⁻¹)	b_{20} (d ⁻¹)	F_A (g X_H /gVSS)	F_E (g X_E /gVSS)	COD Bal. (%)
5.2 day-SRT	<i>VSS-based method</i>						
	863	20	0.233	0.233	0.694	0.306	-
	875	22	0.252	0.238	0.678	0.322	-
	845	25	0.287	0.249	0.685	0.315	-
	1525	26	0.273	0.230	0.669	0.331	-
	1960	24	0.272	0.243	0.685	0.315	-
	1850	23	0.259	0.238	0.685	0.315	-
	<i>OUR-based method</i>						
	1960	24	0.263	0.235	0.683	0.317	102.7
	1850	23	0.254	0.233	0.692	0.308	103.0
10.4 day- SRT	<i>VSS-based method</i>						
	1385	20	0.235	0.235	0.589	0.411	-
	1376	22	0.246	0.232	0.593	0.407	-
	1367	23	0.248	0.228	0.598	0.402	-
	1397	24	0.257	0.229	0.596	0.404	-
	<i>OUR-based method</i>						
	1385	20	0.236	0.236	0.617	0.383	100.9
	1376	22	0.250	0.229	0.594	0.406	96.9
	1367	23	0.251	0.230	0.587	0.413	97.1
	1397	24	0.258	0.230	0.587	0.413	97.4
	Mean			0.237	0.684	0.316	102.9
	std			0.006	0.008	0.008	0.2
	<i>VSS-based method</i>						
	1385	20	0.235	0.235	0.589	0.411	-
	1376	22	0.246	0.232	0.593	0.407	-
	1367	23	0.248	0.228	0.598	0.402	-
	1397	24	0.257	0.229	0.596	0.404	-
	<i>OUR-based method</i>						
	1385	20	0.236	0.236	0.617	0.383	100.9
	1376	22	0.250	0.229	0.594	0.406	96.9
	1367	23	0.251	0.230	0.587	0.413	97.1
	1397	24	0.258	0.230	0.587	0.413	97.4
	Mean			0.231	0.595	0.405	98.1
	std			0.003	0.010	0.010	1.9

5.3.3 Typical ratios of the MBR sludge, X_E and X_H

During runs 1 and 2, the solid fraction of the MBR system mixed liquor was regularly characterized to determine its chemical content of carbon, nitrogen, phosphorus and sulphur (C, N, P and S). This elemental analysis combined with measurements of COD, VSS, TSS and TOC on the analysed samples allowed the evaluation of typical ratios for the MBR sludge (VSS/TSS, ISS/TSS, ISS/VSS, COD/VSS, COD/C, C/VSS, N/VSS, P/VSS and S/VSS). Similar characterisation was performed on the endogenous residue X_E obtained after aerobic batch digestion of the MBR sludge for about three weeks. Considering the proportions of X_E and X_H in the MBR sludge (68.5 and 31.5 % in run 1 and 59.5 and 40.5 % in run 2, respectively), typical ratios for X_H were evaluated by back calculations as detailed in section 5.2.4.

A summary of typical ratios determined for the MBR sludge, the endogenous residue X_E and the active biomass X_H is given in Table 5.3. These results suggest that the endogenous residue has a composition that is different from that of the active biomass. The lower ratio of ISS/TSS (i.e. higher ratio VSS:TSS) determined for X_E shows that it has an inorganic matter content that is about four times lower than that of X_H . This result indicates that synthesis ISS incorporated in activated sludge would be largely released during aerobic digestion as well as in systems operated at longer SRTs. This finding is in agreement with Pollice et al. (2008) who observed an increase in the ratio of VSS:TSS in their MBR system fed a real pre-settled and 1 mm screened municipal influent operated at SRTs in the range of 20-80 days. Similar observations were made in the MBR system of Khor et al., (2006) which were fed with an industrial effluent. In both of these studies, the authors reported a slight decrease of the ratio VSS:TSS when their systems were operated at complete retention of solids (no wastage), however. This decrease of VSS:TSS could be attributed to the accumulation of the inorganic material and to the potential phenomenon of precipitation associated with the pH increase due to the CO_2 stripping while increasing air supply.

Other important elements contained in X_H and X_E (i.e. N, P and S) revealed the same trend of lower contents in X_E than X_H : nitrogen, phosphorus and sulphur were measured to be 2.9, 5.3 and 4.1 times lower, respectively. As regards the carbon content, it was found to be about 1.5 % higher in X_E than in X_H . Finally, the measured COD:VSS ratio determined for X_E (1.482) was found to be higher than that calculated for X_H (1.414).

Table 5.3 - Typical ratios for MBR sludge, endogenous residue and active biomass

		VSS/TSS	ISS/TSS	ISS/VSS	COD/VSS	COD/C	C/VSS	N/VSS	P/VSS	S/VSS
		(gVSS/gTSS)	(gISS/gTSS)	(gISS/gVSS)	(gCOD/gVSS)	(gCOD/gC)	(gC/gVSS)	(gN/gVSS)	(gP/gVSS)	(gS/gVSS)
5.2 day-SRT	MBR Sludge	0.921 ± 0.002	0.079 ± 0.002	0.085 ± 0.003	1.433 ± 0.007	2.694 ± 0.027	0.532 ± 0.004	0.095 ± 0.002	0.016 ± 0.005	0.0065 ± 0.0005
	X _E	0.974 ± 0.003	0.026 ± 0.003	0.027 ± 0.003	1.490 ± 0.006	2.749 ± 0.015	0.542 ± 0.003	0.045 ± 0.004	0.0041 ± 0.0006	0.0026 ± 0.0001
	X _H	0.897 ± 0.002	0.103 ± 0.002	0.112 ± 0.003	1.406 ± 0.008	2.669 ± 0.032	0.527 ± 0.005	0.119 ± 0.001	0.0215 ± 0.0005	0.0083 ± 0.0007
10.4 day-SRT	MBR Sludge	0.924 ± 0.005	0.076 ± 0.005	0.083 ± 0.005	1.443 ± 0.003	2.685 ± 0.016	0.538 ± 0.003	0.092 ± 0.001	0.017 ± 0.0010	0.0078 ± 0.0012
	X _E	0.975 ± 0.005	0.025 ± 0.005	0.026 ± 0.006	1.475 ± 0.006	2.736 ± 0.023	0.539 ± 0.005	0.041 ± 0.002	0.0049 ± 0.0004	0.0022 ± 0.0005
	X _H	0.889 ± 0.005	0.111 ± 0.005	0.122 ± 0.004	1.422 ± 0.001	2.650 ± 0.011	0.537 ± 0.002	0.126 ± 0.001	0.0252 ± 0.0014	0.0116 ± 0.0017
Mean	X _E	0.974 ± 0.004	0.026 ± 0.004	0.026 ± 0.004	1.482 ± 0.006	2.743 ± 0.019	0.540 ± 0.004	0.043 ± 0.003	0.0045 ± 0.0005	0.0024 ± 0.0003
	X _H	0.893 ± 0.004	0.107 ± 0.004	0.117 ± 0.004	1.414 ± 0.005	2.660 ± 0.022	0.532 ± 0.003	0.123 ± 0.001	0.0234 ± 0.0010	0.0099 ± 0.0012

5.3.4 Chemical formulas proposed for the MBR sludge, X_E and X_H

The average values of typical ratios determined for X_E and X_H (Table 5.3) were used to determine chemical formulas for these fractions. The ratios used for that purpose are: $I_{\text{COD}} = \text{COD/VSS}$, $I_{\text{C}} = \text{C/VSS}$, $I_{\text{N}} = \text{N/VSS}$, $I_{\text{P}} = \text{P/VSS}$ and $I_{\text{S}} = \text{S/VSS}$. In this investigation, empirical chemical formulas (type COHN, COHNP and CHONPS) were determined using the system of equations developed in section 5.2.4. Results of determination of these formulas are summarised in Table 5.4. These results confirmed that the endogenous residue matrix differs from that of the active biomass by a relatively high content in oxygen and hydrogen and low content in nitrogen, phosphorus and sulphur. Thus, it is suggested that the endogenous residue resulting from the oxidation of the active biomass is constituted of organics that are more reduced than those constituting the active biomass. Results indicate that nitrogen, phosphorus and sulphur are essentially intracellular products of cells that are released during the biomass decay process (ammonia, orthophosphates and sulphates) resulting in less content of these elements in generated endogenous products.

Some empirical chemical formulas for the active biomass (prokaryotic cells) are presented in Table 5.5 adapted from Rittmann and McCarty (2001). The methods used for determining these

formulae are not presented nor is it stated whether they account for endogenous residue. The formula $C_5H_7O_2N$ of Hoover and Porges (1956) is the most representative of the active biomass X_H developed in our investigation ($C_5H_{6.923}O_{1.998}N_{0.991}$). For the endogenous residue, no formula was found in the literature. By considering the elements P and S in the formulas determination process, there were no significant changes in the final formulas with regard to the elements C, O and N, but a small effect is noted in the hydrogen content. This is to be expected because of the relatively low molar weight of hydrogen (≈ 1 g/mol).

The formulas of X_H and X_E are very useful for mathematical models based on elemental balances of C, H, O, N, P, and S (Takács, 2008; Takács et al., 2007; Vanrolleghem et al., 2005; Volcke et al., 2006). Takács et al. (2007) reported that elemental balancing provides a simple and rigorous way to establish the stoichiometric coefficients of reactions represented in the Gujer matrix. Details on how to use elemental balancing to determine these stoichiometric coefficients could be seen in Takács (2008) and Takács et al. (2007). Being able to determine similar chemical formulas for all of the state variables conventionally used in mathematical models will help to interface and to connect the existing models (example ASM to ADM) as suggested by the method called continuity-based interfacing of models (CBIM) described in (Vanrolleghem et al., 2005; Volcke et al., 2006).

Table 5.4 - Chemical formulas for the endogenous and active fractions

Sludge component	Formula type	Formula
X_E	CHON	$C_5H_{6.594}O_{2.483}N_{0.341}$
	CHONP	$C_5H_{6.466}O_{2.460}N_{0.341}P_{0.016}$
	CHONPS	$C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$
X_H	CHON	$C_5H_{6.923}O_{1.998}N_{0.991}$
	CHONP	$C_5H_{6.251}O_{1.875}N_{0.991}P_{0.085}$
	CHONPS	$C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$

Note: These formulas were standardised to 5 carbon atoms per molecule

Table 5.5 - Empirical chemical formulas for prokaryotic cells (after Rittmann and McCarty, 2001) formulas for the endogenous and active fractions

Emperical Formula	Molar weight	COD/VSS	%N	Growth conditions	Reference
<i>Mixed Cultures</i>					
$C_5H_7O_2N$	113	1.42	12	Casein, aerobic	1
$C_7H_{12}O_4N$	174	1.33	8	Acetate, ammonia, aerobic	2
$C_9H_{15}O_5N$	217	1.40	6	Acetate, nitrate, aerobic	2
$C_9H_{16}O_5N$	218	1.43	6	Acetate, nitrate, aerobic	2
$C_{4.9}H_{9.4}O_{2.9}N$	129	1.26	11	Acetate, methanogenic	3
$C_{4.7}H_{7.7}O_{3.2}N$	112	1.38	13	Octanoate, methanogenic	3
$C_{4.9}H_9O_3N$	130	1.21	11	Glycine, methanogenic	3
$C_5H_{8.8}O_{2.1}N$	134	1.16	10	Leucine, methanogenic	3
$C_{4.1}H_{6.8}O_{2.2}N$	105	1.20	13	Nutrient broth, methanogenic	3
$C_{5.1}H_{8.5}O_{2.5}N$	124	1.35	11	Glucose, methanogenic	3
$C_{5.3}H_{9.1}O_{2.5}N$	127	1.41	11	Starch, methanogenic	3
<i>Pure Cultures</i>					
$C_5H_8O_2N$	114	1.47	12	Bacteria, acetate, aerobic	4
$C_5H_{8.33}O_{0.81}N$	95	1.99	15	Bacteria, undefined	4
$C_4H_8O_2N$	102	1.33	14	Bacteria, undefined	4
$C_{4.17}H_{7.42}O_{1.38}N$	94	1.57	15	<i>Aerobacter aerogenese</i> , undefined	4
$C_{4.54}H_{7.91}O_{1.95}N$	108	1.43	13	<i>Klebsiella aerogenes</i> , glycerol	4
$C_{4.17}H_{7.21}O_{1.79}N$	100	1.39	14	<i>Klebsiella aerogenes</i> , glycerol	4
$C_{4.16}H_8O_{1.25}N$	92	1.67	14	<i>Escherichia coli</i> , undefined	5
$C_{3.85}H_{6.69}O_{1.78}N$	95	1.30	15	<i>Escherichia coli</i> , glucose	5
Mean		1.41	11.8		
Highest		1.99	15		
Lowest		1.16	6		

References: 1: Porges et al.(1956); 2:Symons and McKinney(1958); 3: Speece and McCarty (1964); 4: Bailey and Ollis(1986); 5: Battley (1987)

5.3.5 X_E , X_H and EPS

5.3.5.1 Yield of extraction, polysaccharides and proteins

MBR Sludge from run 2 and the endogenous residue generated from this sludge by prolonged aerobic batch digestion were investigated to determine their content on EPS following the protocol presented in Figure 5.2. Proteins and polysaccharides were the sole biochemical compounds of EPS analysed on the extracts. All extracted products were expressed in COD units by considering 1.5 g COD/g VSS for proteins and 1.07 g COD/g VSS for polysaccharides. These conversion factors were suggested in (Jiang et al., 2008) and confirmed experimentally on BSA

and glucose respectively in our study. As for the intracellular G6P-DH activity, measurements from all extracted samples indicated no presence of intracellular material for the four extraction methods.

The yield of EPS extraction for each method was evaluated by expressing the ratio of the filtered COD generated to the initial particulate COD of MBR sludge or X_E . The initial particulate COD was determined as total COD minus filtered COD (with 1.2 μm filter) according to WEF (2003). In this study, extracts containing EPS were obtained after a filtration step using either 0.45 μm or 1.2 μm filters and were analysed for proteins and polysaccharides.

Results of the characterization of EPS for the endogenous residue and the MBR sludge are summarised in Table 5.6. These results indicate high yields of extraction when chemical methods are used (in decreasing order: Triton X-100 > CH_2O + NaOH > Heat > Sonication). The higher yield was obtained with the non-ionic Triton X-100 detergent: 174.1 ± 5.7 and 308.4 ± 3.5 mg fCOD/g pCOD for X_E and the MBR sludge respectively (filtered COD of extracted products measured with 1.2 μm filter). This result is in agreement with Ras et al. (2008) who reported a particularly high extraction yield for proteins using Triton X-100. Similar conclusions were reported in Gessesse et al. (2003) who showed that Triton X-100 has a high affinity for the extraction of enzymes like protease and lipase which constitute a considerable part of the pool of proteins in the activated sludge matrix.

Proteins were shown to be the major compounds of EPS extracted from X_E and MBR sludge independently of the method of extraction. The polysaccharides to proteins ratio was 1:3.1 to 4.3 for X_E and 1:6.1 to 7.0 for the MBR sludge. In the literature, values reported for the ratio of polysaccharides to proteins ranged from 1:1.6 to 1:4.9 (Comte et al., 2006; Comte et al., 2007). These ratios are expressed in these studies in VSS units and should be converted to COD units to compare them to our results. By considering 1.5 g COD/g VSS for proteins and 1.07 g COD/g VSS for polysaccharides, the reported range of these ratios becomes 1:2.2 to 1:6.9, which is in accordance with our results.

Note that the sum of proteins and polysaccharides accounted for about 78 to 88 % of the filtered COD of the extracted EPS. This range seems to be reasonable considering that our MBR system, where the synthetic sludge was produced, received no EPS from the influent. The remaining uncharacterised part of the extracted products (12 to 22% of filtered COD) is likely accounted for

by nucleic acids, lipids and uronic acids as suggested in the literature (Laspidou and Rittmann, 2002; Raszka et al., 2006).

As for the size of EPS in the extracts, results show that the filtered COD using 1.2 μm was slightly higher than that of filtered COD using 0.45 μm for all methods of extraction, suggesting that the size of some released EPS was higher than 0.45 μm . This fraction of EPS ($> 0.45 \mu\text{m}$) is likely to be proteins since the amount of polysaccharides in the extracted products filtered with either 1.2 μm or 0.45 μm filters was relatively the same for all cases.

5.3.5.2 Repartition of EPS between X_E and X_H in the MBR sludge

In this study, the content of EPS in the MBR sludge was assumed to be linearly distributed between X_H and X_E based on their proportions in the sludge (59.5 and 40.5% of X_H and X_E respectively in run 2). Following the same approach as for the determination of typical ratios, the content of EPS associated to X_H was characterized by back calculations using equations similar to equation (19). This approach was applied to the four methods of extraction leading to the results summarized in Table 5.7). Data show that extracted EPS are essentially associated to X_H (26 to 40%, Table 5.7) compared with X_E (10 to 17%, Table 5.6). This result suggests that the amount of EPS extracted from the VSS matrix in activated sludge systems will decrease with increasing SRT as a consequence of the decrease in the active fraction proportion.

As for the origin of EPS extracted from X_E , two hypotheses could be made:

- the totality of these EPS were generated during biomass growth and substrate utilization and, assuming that the hydrolysis of these EPS is lower than that of the active biomass, a part of these EPS is included in the matrix of X_E as suggested in Laspidou and Rittmann (2002) ;
- The totality of these EPS or part of them is assumed to be extracted from the organic compounds composing the endogenous residue matrix and generated during the endogenous process but not originating from the biomass growth and substrate utilization processes.

This issue is recommended for more investigation to better understand the fate of the endogenous products in activated sludge systems.

Table 5.6 - Summary of the characterization of the EPS extracted from the endogenous residue and the MBR sludge

Extraction Methods	Endogenous residue				MBR activated sludge			
	fCOD/pCOD _E	PRO/pCOD _E	POL/pCOD _E	(PRO+POL)/fCOD	fCOD/pCOD _{SLG}	PRO/pCOD _{SLG}	POL/pCOD _{SLG}	(PRO+POL)/fCOD
	mg COD/g COD	mg COD/g COD	mg COD/g COD	%	mg COD/g COD	mg COD/g COD	mg COD/g COD	%
(A)				(A)				
Sonication	108.7 ± 4.5	68.5 ± 1.0	16.1 ± 0.8	77.9 ± 3.2	211.5 ± 3.5	150.3 ± 1.8	23.0 ± 0.6	81.9 ± 0.8
Heat	117.6 ± 2.5	76.9 ± 1.0	20.5 ± 0.5	82.9 ± 2.0	223.2 ± 2.4	158.9 ± 4.7	24.5 ± 0.6	82.2 ± 1.8
CH ₂ O + NaOH	156.8 ± 4.6	98.3 ± 2.0	31.3 ± 0.6	81.3 ± 6.9	255.6 ± 5.7	180.2 ± 4.5	28.6 ± 0.5	81.6 ± 3.0
Triton X-100	174.1 ± 5.7	114.1 ± 0.9	32.4 ± 0.3	81.6 ± 7.9	308.4 ± 3.5	228.7 ± 3.7	33.2 ± 0.4	84.3 ± 2.7
(B)				(B)				
Sonication	102.4 ± 4.4	65.1 ± 1.3	15.6 ± 0.5	78.9 ± 3.2	202.1 ± 2.4	139.1 ± 2.5	21.6 ± 0.8	79.5 ± 1.0
Heat	113.8 ± 2.4	75.1 ± 1.6	20.1 ± 0.3	83.7 ± 2.3	212.6 ± 5.8	154.7 ± 4.7	23.6 ± 0.5	83.9 ± 1.2
CH ₂ O + NaOH	145.2 ± 4.2	93.3 ± 1.9	30.4 ± 0.6	83.8 ± 5.3	238.5 ± 4.2	168.8 ± 4.8	27.8 ± 0.5	81.7 ± 2.1
Triton X-100	150.1 ± 3.0	98.9 ± 1.3	31.4 ± 0.3	87.3 ± 4.4	295.6 ± 3.4	220.5 ± 2.7	31.6 ± 0.4	84.1 ± 2.7

fCOD: filtered COD of extracted products; pCOD_E: particulate COD of X_E (determined as total COD - filtered COD (with 1.2 μm filter)); PRO: proteins in COD units; POL: polysaccharides in COD units; pCOD_{SLG}: particulate COD of the MBR sludge (determined as total COD - filtered COD (with 1.2 μm filter));

(A): Filtered COD, proteins and polysaccharides were analysed on extracted products filtered using 1.2 μm filter;

(B): Filtered COD, proteins and polysaccharides were analysed on extracted products filtered using 0.45 μm filter.

Table 5.7 - Calculated EPS associated to the active biomass

Extraction Method	fCOD/pCOD _H	PRO/pCOD _H	POL/pCOD _H
	mgCOD/gCOD	mgCOD/gCOD	mgCOD/gCOD
(A)			
Sonication	264.7 ± 2.7	193.9 ± 2.2	27.7 ± 0.5
Heat	295.1 ± 2.3	214.7 ± 7.2	27.2 ± 0.7
CH ₂ O + NaOH	322.9 ± 6.4	235.9 ± 6.2	26.8 ± 0.4
Triton X-100	399.8 ± 2.0	306.7 ± 5.7	33.7 ± 0.5
(B)			
Sonication	270.0 ± 1.0	189.5 ± 3.3	25.7 ± 1.0
Heat	279.9 ± 8.1	208.9 ± 6.8	26.0 ± 0.6
CH ₂ O + NaOH	302.0 ± 4.2	220.2 ± 7.4	26.0 ± 0.4
Triton X-100	394.6 ± 3.7	303.3 ± 3.7	31.7 ± 0.5

pCOD_H: particulate COD of X_H; fCOD, PRO and POL as defined in Table 5.6

5.3.6 General discussion

The X_H and X_E components of activated sludge were characterized in this research to highlight their main differences in terms of chemical composition and EPS content. This was achieved by

growing a synthetic activated sludge on a soluble and completely biodegradable influent where sodium acetate was the sole carbon source.

5.3.6.1 Synthesis ISS in X_H and X_E

Synthesis ISS are the inorganic solids incorporated in the active biomass as result of the bacterial growth. These inorganics are associated with the VSS matrix (in this study composed of X_H and X_E) and are measured as the ash content when solids captured on a glass fibre filter are incinerated in a muffle furnace at 550°C. The ASM models do not explicitly account for this synthesis ISS but instead use an assumed ratio of TSS:COD (ASM2, ASM2d) to determine total suspended solids in a given activated sludge system (Henze et al., 2000). Ekama and Wentzel (2004) suggested using the ratio VSS:COD instead of TSS:COD since all the compounds composing the VSS matrix exert a COD. The TSS concentration is then calculated from VSS by adding ISS ($TSS = VSS + ISS$). In their work, Ekama and Wentzel (2004) proposed an ISS model to predict ISS in activated sludge systems by computing the influent ISS accumulating in the system as a function of the SRT, HRT and the concentration in the influent and adding this to the synthesis ISS which is dependent on the active fraction of X_H in the system and its ISS content. In biological phosphorus removal systems, ISS associated with PAOs (polyphosphate accumulating organisms) should be added to determine total ISS. In their conceptual model, Ekama and Wentzel (2004) assumed that the unbiodegradable particulate compounds (i.e the endogenous residue and the unbiodegradable organics from the influent) contain no ISS. This differs from ASM2 and 2d which consider an inorganic content associated with X_E and $X_{U,inf}$ (Henze et al., 2000). Values suggested in ASM2 and 2d are 0.278, 0.110 and 0.110 g ISS/g VSS for X_H , X_E and $X_{U,inf}$ respectively (assuming conversion factors of 1.42, 1.48 and 1.48 g COD/g VSS for X_H and X_E and $X_{U,inf}$ respectively). Based on the values of ISS as predicted by the model of Ekama and Wentzel (2004), higher concentrations of ISS were obtained in the reactor (Ekama et al., 2006). Synthesis ISS in the model of (Ekama and Wentzel, 2004) are completely associated to the active biomass X_H to which a value of 0.15 g ISS/g X_H (as VSS) was estimated.

In our investigation, synthesis ISS was shown to be associated to X_H and, to a much lesser degree, X_E . Average values of 0.117 ± 0.004 and 0.026 g ISS/g VSS were determined experimentally for X_H and X_E . These results suggest that synthesis ISS are mainly contained in the active biomass as intracellular products. It is also possible that a very small part of ISS is

originating from the bound water that remains in the TSS matrix after drying samples at 105°C in TSS-VSS tests. This water is evaporated when solids are dried at 550°C leaving a small quantity of ISS as suggested in Ekama and Wentzel (2004). Considering the extracellular polymeric substances (EPS) associated to the active biomass and the endogenous residue and the role of divalent cations (Ca^{2+} and Mg^{2+} principally) in bridging bacterial flocs as suggested by Sobeck and Higgins (2002), it could be hypothesized that a part of the synthesis ISS is originating from extracellular products (divalent cations). The lower amount of ISS associated to X_E might be completely attributed to these divalent cations considering its relatively low content on EPS.

In addition to these considerations, it should be noted that synthesis ISS are the portion of the total ISS of the mixed liquor that cannot be separated by physical processes such as hydrocycloning and its determination might help to determine accurately the part of total ISS available for such physical removal.

5.3.6.2 COD/VSS for X_H and X_E

COD is a key parameter used to quantify organic matter in activated sludge models. The concentration of mixed liquor VSS is then calculated assuming a COD:VSS ratio (WERF, 2003). Considering the nature and the origin of the of VSS particulate components (X_H , X_E , $X_{u,inf}$ and X_S), it is suggested that a specific COD:VSS ratio be identified for each component. This suggestion is justified by the fact that the relative proportions between these four components in the VSS matrix depends on the system SRT and the concentration of the unbiodegradable organics in the influent. Particularly at high SRTs, the ratio of COD:VSS for mixed liquor is influenced by the amounts of X_E and $X_{U,Inf}$. In this investigation the COD:VSS ratio was determined for X_H and X_E and was shown to be slightly higher for X_E (1.482) as compared to X_H (1.414). This result will help to refine simulation of activated sludge systems operated with little content of $X_{U,Inf}$ (undergoing physical treatment by hydrocycloning for example), particularly when operated at high SRTs. In such conditions, the mixed liquor VSS will contain higher amounts of X_H and X_E and the overall COD:VSS ratio of the system will be influenced by the individual COD:VSS ratios of these two components.

Having good estimates of the individual COD:VSS ratios of the particulate components of activated sludge, good estimates of synthesis ISS and a good measurement of the influent ISS

will help to accurately simulate VSS, ISS and TSS of the mixed liquor in activated sludge systems.

5.3.6.3 Synthesis nitrogen and phosphorus in X_H and X_E

Determining the fate of nitrogen and phosphorus (nutrients) is a very important task in wastewater treatment plant modelling and requires synthesis nitrogen and phosphorus associated with X_H and X_E to be accurately determined. This makes it possible to evaluate the nitrogen available for nitrification/denitrification and phosphorus available for biological and/or chemical phosphorus removal. In the case of nitrification, accurately quantifying the available nitrogen has important consequences for the overall oxygen demand.

In their general model for biological nutrient removal, Barker and Dold (1997) suggested that X_H and X_E have the same contents of nitrogen (0.10 g N/g VSS) and phosphorus (0.031 g P/g VSS). This differs from ASM2 and 2d (Henze et al., 2000) in which different N and P contents have been assigned for X_H and $X_{U,Inf}$, which includes both X_E and influent unbiodegradable particulates (0.100 and 0.044 g N/g VSS and 0.030 and 0.015 g P/g VSS for X_H and X_E , respectively). In all three of these models, values of the N and P contents for X_H and X_E or X_H and $X_{U,Inf}$ were given without any specific experiments performed for their determinations. Results of our investigation confirm that the endogenous residue contains less nitrogen and phosphorous than active biomass (0.123 and 0.043 g N/g VSS and 0.0234 and 0.0045 g P/g VSS for X_H and X_E , respectively) which is in agreement with the hypotheses made in Takács (2008) and WERF (2003).

Furthermore, data on the EPS content of X_H and X_E indicate that proteins are the most important organics extracted from both X_H and X_E . This result suggests that organic nitrogen (contained in proteins) is not only associated with intracellular products of the biomass but also to extracellular products (bound EPS). The organic nitrogen contained in the endogenous residue, which contains no intracellular products, is essentially attributed to the protein content of the EPS associated to X_E . The origin of this organic nitrogen can therefore be explained according to two sources:

- It originates from the proteins produced during the biomass growth and substrate utilization and bounded to the VSS matrix as extracellular products. Assuming that the hydrolysis of these proteins is lower than that of the active biomass, a part of these proteins would be included in the matrix of X_E as suggested in Laspidou and Rittmann (2002);

- It is part of other organics constituting the endogenous residue but that are not generated during the biomass growth and substrate utilization.

It could be hypothesised that the organic nitrogen associated with X_E originates from both of these sources and, as a result, the amount of nitrogen available for nitrification is depending on its accessibility (hydrolysis, SRT).

5.3.6.4 Importance of EPS in X_H and X_E

In this study, X_H and X_E were shown to contain extracellular polymeric substances as part of their structural compositions. Extraction of these EPS using either physical or chemical methods indicates that bound EPS associated to X_H ranged from 26 to 40 % (in COD basis) compared to 11 to 17% associated to X_E . These results suggest that bound EPS are essentially generated relative and proportional to the active fraction in activated sludge systems and that their content will consequently decrease with increasing SRT. Considering the role of these EPS in the aggregation of the organics composing the VSS matrix (bioflocculation) and the fact that the active biomass decreases with increasing SRT, impaired sludge settleability would be expected at high SRTs as a consequence of EPS hydrolysis. This conclusion is in agreement with the work of Massé et al. (2006) who reported the deterioration of sludge settleability and the release of EPS to the supernatant in their system operated at high SRTs.

Many works have pointed out that bound EPS are two layer-structured in the floc matrix: loosely bound EPS (LB-EPS) and tightly bound EPS (TB-EPS) surrounding cells (Li and Yang, 2007; Poxon and Darby, 1997; Wang et al., 2009), LB-EPS are supposed to hydrolyse faster than TB-EPS. Based on this information, EPS associated to X_E should account mainly for tightly bound EPS considering their low hydrolysis kinetic (EPS remained in the sludge after 21 days of aerobic batch digestion). However, it is very interesting to note that the composition of X_E was investigated in our study in terms of extractable bound EPS which were shown to account for only 11 to 17% of the X_E matrix. This percentage of extractable EPS from X_E should not be fully attributed to EPS generated during the biomass growth and substrate utilization but probably to EPS included previously in the biomass (polysaccharides and proteins of cell walls) and remaining in the VSS matrix of X_E as result of the endogenous process. The percentage of X_E not extracted as EPS (ranging from 83 to 89%) is recommended for further research.

Identification of the significant amount of bound EPS associated to X_H and X_E , and thus to the mixed liquor VSS, should assist in the development of mathematical models dealing with EPS as a separate state variable. The main drawback of such models is the high number of parameters required to describe the newly added microbial processes taking into account EPS components (Jiang et al., 2008; Ramdani et al., 2010). Furthermore, there is no universal selective methods for the extraction of EPS and no standardized methods for their quantification (results are different as we have seen in this investigation). The ASM-based models are very reliable for describing and simulating conventional activated sludge systems but should be adapted for simulation of MBR systems due to the accumulation of soluble microbial products (soluble EPS) with sizes higher than that of the membrane pore size. In such systems, the filtered COD of mixed liquor (with both 0.45 and 1.2 μm filters) could not be accurately simulated with ASM-based models.

The determination of bound EPS, and particularly the EPS associated with X_E , should help to understand the behaviour of this component at high SRTs. EPS bound to X_E are supposed to hydrolyse at a slow decay rate suggesting that at least a certain percentage of the VSS matrix of X_E will be degraded at high SRTs. Using the four EPS extracting methods, less than 20% of X_E were shown to be EPS, the remaining part could also be EPS or another material different from EPS. In our work (Ramdani et al., 2010), about 30% of the endogenous residue matrix was degraded in a batch digestion unit under intermittent fermentation conditions and operated for 90 days. This result indicates that further material other than that extracted as bound EPS was degraded in the matrix of X_E . Thus, the endogenous residue could be considered to be a sufficiently homogenous component constituted of very slowly biodegradable materials as simulated in Ramdani et al. (2010).

5.4 Conclusion

The objective of this study was to characterize the endogenous and the active fractions of activated sludge from the chemical and biochemical standpoint (typical ratios, chemical formula, and content of EPS) in carefully controlled experiments. Activated sludge for this investigation was produced in 200 L MBR operated at 5.2 and 10.2 days SRT (runs 1 and 2), respectively. To target the biological fractions X_H and X_E , a soluble and completely biodegradable influent with acetate as the sole carbon source was used to feed the MBR system.

Results from this investigation have highlighted the major differences between X_H and X_E leading to the following conclusions:

- The typical ratios determined for X_E and X_H confirmed that different chemical structures should be attributed to these two fractions. The endogenous residue contains less synthesis ISS, N, P and S than the active biomass and slightly more carbon than X_H . Their relative composition ratios (compared ratios were expressed per VSS unit) were 1 to 4.2 for inorganic material, 1 to 2.7 for nitrogen, 1 to 5.3 for phosphorus, 1 to 3.2 for sulfur and 1 to 0.98 for carbon. Using these ratios, the following chemical formulas were determined for X_H and X_E , respectively: $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$ and $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$. These formulas could be used in mathematical models based on elemental balance methodology;
- Synthesis ISS are mainly contained in the active biomass as intracellular products. They are also assumed to originate in lesser proportion from extracellular products (linked to bound EPS). The endogenous residue, without any intracellular products, is thought to contain synthesis ISS as part of its particulate matrix (associated to bound EPS). A very small amount of ISS originating from the bound water dissolved solids might contribute to synthesis ISS associated to X_H and X_E ;
- Typical composition ratios and formulas determined for X_E and X_H in this investigation constitute an original contribution to modelling of wastewater treatment systems. The individual conversion factors COD/VSS of X_E and X_H can help to estimate more accurately the mixed liquor VSS (and TSS), notably in activated sludge models;
- A significant amount of bound EPS was shown to be associated to both X_E (11 to 17% in COD basis) and X_H (26 to 40%). Bound EPS were found to be more abundant in X_H than X_E and were supposed to be generated in proportion to the concentration of X_H in activated sludge systems;
- The characterization of X_H and X_E can assist sludge characterization in well designed experiments, allowing identification of the accumulated influent unbiodegradable organics $X_{U,Inf}$ originating from the influent wastewater.

Acknowledgements

The authors thank Denis Bouchard, technician at the Environment Engineering Laboratory (Ecole Polytechnique of Montreal) for his technical support. This work was funded by a Collaborative Research and Development (CRD) grant from the Natural Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC) in collaboration with John Meunier Inc., Veolia Environment, EnviroSim Associates Ltd, the City of Saint-Hyacinthe and by the Canadian Water Network.

Appendix: hydraulic and mass balances

Notations

$\%B_{\text{COD}}$	COD mass balance in %
$\%B_{\text{H}}$	Hydraulic mass balance in %
$\%B_{\text{N}}$	Nitrogen mass balance in %
$\%B_{\text{P}}$	Phosphorus mass balance in %
COD_e & J_{COD_e}	MBR effluent COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
COD_i & J_{COD_i}	MBR influent COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
$\text{COD}_{t,\text{inf}}$	Influent total COD
COD_w & J_{COD_w}	MBR wastage COD concentration (mg/L) & flux (g/d)
f_{N}	Nitrogen content of the heterotrophic biomass (g N/g X_{H})
$J_{\text{COD}_{\text{cb}}}$	COD flux consumed in the MBR (g O_2 /d)
$J_{\text{COD}_{\text{den}}}$	COD flux consumed in the selector (g O_2 /d) for denitrification
NOx_e & J_{NOx_e}	MBR effluent nitrite ⁴ + nitrate concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
NOx_i & J_{NOx_i}	MBR influent nitrite + nitrate concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
NOx_r & J_{NOx_r}	MBR internal recycle nitrate concentration (mg N/L) & flux (g N/d) to the

⁴ NO_2 was negligible. The NOx were mainly composed of nitrate

Selector

NOx_s & J_{NOx_s}	MBR selector effluent nitrate concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
O_b	MBR dissolved oxygen concentration (mg O_2 /L)
NOx_w & J_{NOx_w}	MBR wastage nitrate + nitrate concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
O_i & J_{O_i}	Influent dissolved oxygen concentration (mg O_2 /L) & flux (g O_2 /d)
O_r & J_{O_r}	Internal Recycle dissolved oxygen concentration (mg O_2 /L) & flux (g O_2 /d) to the selector
P_e & J_{P_e}	MBR effluent total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)
P_i & J_{P_i}	MBR influent total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)
P_w & J_{P_w}	MBR wastage total phosphorus concentration (mg P/L) & flux (g P/d)
Q_i	MBR influent flow rate (L/d)
Q_w	MBR Wastage flow rate (L/d)
Q_e	MBR Effluent flow rate (L/d)
Q_r	MBR internal recycle flow rate to the selector (L/d)
Q_s	MBR-Selector effluent flow rate (L/d)
Q_{bw}	MBR Backwash flow rate (L/d)
Q_f	MBR filtered water flow rate (L/d)
TKN_e & J_{TKN_e}	MBR effluent total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TKN_i & J_{TKN_i}	MBR influent total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TKN_w & J_{TKN_w}	MBR wastage total Kjeldahl nitrogen concentration (mg N/L) & flux (g N/d)
TOUR	MBR total oxygen uptake rate (mg O_2 $\text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) including nitrification
V_b & V_s	MBR and selector volumes (L)

Mass balances around the MBR system

To check the constancy of the parameters measured on the MBR system operated at 11.7 hours-HRT, and at 5.2 days-SRT (run 1) and 10.4 days-SRT (run 2), a characterization on a weekly basis (run 1) and on a monthly basis (run 2) was realized on the MBR system (Figure 5A) to perform a hydraulic and mass balances (COD, N and P). The equations expressing mass balances (5A.1 to 5A.6) were developed according to (Barker and Dold, 1995).

Hydraulic balance

$$\%B_H = 100 * \frac{(Q_e + Q_w)}{Q_i} \quad (5A.1)$$

N mass balance

$$\%B_N = 100 * \frac{(J_{NTK_e} + J_{NO_{x_e}} + J_{NTK_w} + J_{NO_{x_w}} + J_{NO_{x_r}} - J_{NO_{x_s}})}{(J_{NTK_i} + J_{NO_{x_i}})} \quad (5A.2)$$

COD mass balance

$$\%B_{COD} = 100 * \frac{(J_{COD_e} + J_{COD_w} + J_{COD_{cb}} + J_{COD_{den}} + J_{O_r} + J_{O_i})}{J_{COD_i}} \quad (5A.3)$$

COD consumed in the MBR is determined by the equation (5A.4):

$$J_{COD_{cb}} = TOUR * V_b * 24 - 4.57 * (J_{NO_{x_e}} + J_{NO_{x_w}} + J_{NO_{x_r}} - J_{NO_{x_s}}) \quad (5A.4)$$

COD consumed for denitrification is given by the equation (5A.5):

$$J_{COD_{den}} = 2.86 * (J_{NO_{x_r}} - J_{NO_{x_s}}) \quad (5A.5)$$

P mass balance

$$\%B_P = 100 * \frac{(J_{P_e} + J_{P_w})}{J_{P_i}} \quad (5A.6)$$

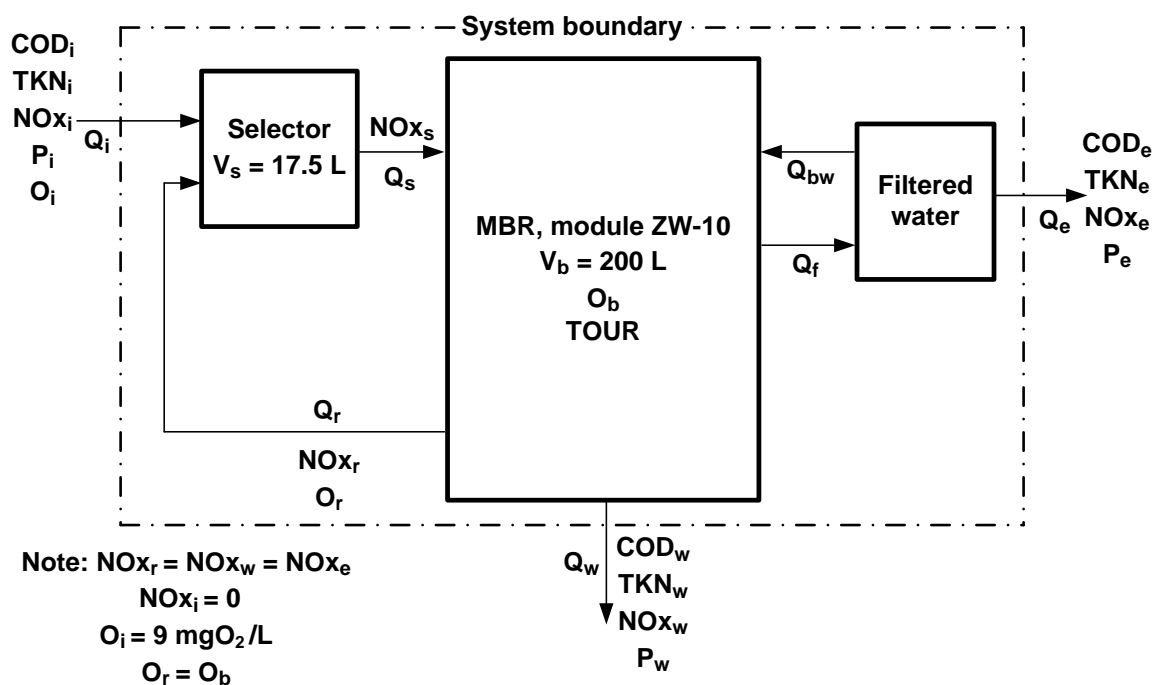


Figure 5A.1 - Mass balances around the MBR system

CHAPITRE 6 DETERMINING CORE PARAMETERS FOR ACTIVATED SLUDGE BIOKINETIC MODELS

Abdellah Ramdani^{a,*}, Peter Dold^b, Alain Gadbois^c, Stéphane Délérès^d, Dwight Houweling^b, Yves
Comeau^a

^a Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Ecole Polytechnique of Montreal,
P.O. Box 6079, Station centre-ville, Montreal (Quebec) H3C 3A7, Canada

^b EnviroSim Associates Ltd, McMaster Innovation Park, 175 Longwood Rd South, Suite 114A,
Hamilton (Ontario) L8P 0A1, Canada

^c John Meunier Inc., 4105, Sartelon Street, Saint-Laurent (Quebec) H4S 2B3, Canada

^d VERI, Veolia Environment, BP76, Chemin de la Digue, 76 400, Maisons-Laffitte, France

*Corresponding author. Tel.: +1 514 340 4711 (ext. 3966); Fax: +1 514 340 5918.

E-mail address: abdellah.ramdani@polymtl.ca

Cet article a été soumis à la revue *Water Research* le 22 février 2011

Abstract

Quantifying the biomass-related sludge production in the activated sludge process essentially is determined by three parameters: the heterotrophic yield (Y_H), the endogenous respiration rate (b_H) and the amount of endogenous residue generated (f). A literature review reveals significant differences between the recommended values for Y_H , b_H and f ; this impacts the predictions of sludge production, carbonaceous oxygen requirement and particularly the organic sludge composition (fractionation). The objective of this study was to develop a methodology to determine these parameters (Y_H , b_H , f) in well designed experiments for an activated sludge grown on acetate. At long SRTs biodegradation of the endogenous residue (X_E) was confirmed in

an aerobic membrane digestion unit (MDU) operated with complete solids retention and receiving a daily feed of waste activated sludge generated in a 10.4 day-SRT membrane bioreactor fed with acetate. The heterotrophic yield (Y_H) was determined in growth batch tests starting from a small seed of sludge suspended in a growth medium non limiting in substrate (acetate), and by monitoring particulate COD, soluble COD and electron acceptor utilization (oxygen or nitrate). Aerobic endogenous decay rate (b_H) was determined by aerobically digesting mixed liquor from the 10.4 day SRT-MBR system in batch tests for 21 days; VSS and oxygen uptake rate responses were monitored. Under anoxic conditions, similar batch tests were performed in the presence of nitrate by monitoring ammonia, nitrate utilization rate and VSS responses. The endogenous decay fraction (f) was estimated using equations giving the sludge components at steady state conditions in the 10.4 day-SRT-MBR. The estimated acetate heterotrophic yields for aerobic and anoxic conditions were 0.567 and 0.404 g COD/g COD, respectively. These are lower than values considered typical for municipal wastewaters 0.666 and 0.540 g COD/g COD, respectively. The aerobic and anoxic heterotrophic yields for growth on citrate were 0.647 and 0.462 g COD/g COD, respectively. The value of the aerobic endogenous decay rate (b_H) was estimated at 0.24 d^{-1} at 20°C . Under anoxic conditions, the b_H value (0.126 d^{-1}) was found to be reduced by 50%. The endogenous decay fraction (f) was estimated as 0.209. Finally, an endogenous residue decay rate constant (b_E) in the range $0.006\text{--}0.007 \text{ d}^{-1}$ at 20°C was determined under aerobic conditions assuming a first-order decay of the endogenous residue in the MDU experiment.

Keywords: Activated sludge, heterotrophic yield, endogenous decay rate, endogenous fraction, biodegradation, modelling.

6.1 Introduction

The accumulation of organic solids in activated sludge systems principally is governed by the behaviour of the heterotrophic biomass and the accumulation of the influent unbiodegradable particulate material ($X_{U,Inf}$). Typically two microbial processes are considered to explain the behaviour of the heterotrophic microorganisms: growth on substrate; and decline in terms of endogenous respiration (including decay, lysis, maintenance, and predation).

Quantifying sludge production is an important task in wastewater treatment plant design. In fact, the choice and design of wastewater and sludge treatment facilities and the overall associated

construction and operating costs largely depend on the amount of sludge generated (Metcalf & Eddy, 2003; Qasim, 1999). The composition of this sludge in terms of particulate components depends primarily on the influent wastewater composition, the performance of the primary clarifier (if present), sludge retention time (SRT) and the temperature (Dold, 2007). This composition is a factor in the selection and design of sludge treatment units.

In quantifying the biomass-related sludge production in municipal wastewater treatment plants Dold (2007) pointed out the dominant effect of three parameters for a system operated at a given SRT: the yield coefficient (Y_H), the endogenous respiration rate (b_H), and the amount of endogenous residue generated per unit active biomass undergoing decay (f). A literature review reveals very significant differences between the suggested sets of values for the three parameters Y_H , b_H and f (Dold, 2007; Henze et al., 2000; Kappeler and Gujer, 1992; Metcalf & Eddy, 2003). Dold (2007) noted this feature, recalling that Marais and Ekama (1976) proposed that the parameters should be determined independently. It is intriguing that different sets of the three parameters provide very similar fits to certain data sets; for example, for sludge production and oxygen utilization rate as a function of SRT. However, in that case the two sets will provide very different predictions of the active biomass fraction of the volatile solids. The objective obviously is that one parameter set should provide the correct prediction of all characteristics of interest.

A further complicating factor in assessing sludge production is that several recent publications have reported the slow biodegradation of the supposedly “unbiodegradable” endogenous residue of activated sludge, particularly in systems operated at long SRT under either aerobic (Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009), anaerobic (Araujo et al., 1998; Jones et al., 2008; Jones et al., 2009; Ramdani et al., 2010), or alternating aerated and unaerated conditions (Ramdani et al., 2010). Thus, in modeling activated sludge systems, a new microbial process is required to describe the decay of the endogenous residue. The simplest approach is to assume first-order kinetics with respect to the concentration of endogenous residue (rate parameter, b_E) as suggested by Jones et al. (2008); Jones et al. (2009); Lubello et al. (2009); and Ramdani et al. (2010).

The objective of this paper is to present a methodology for determining a consistent set of model parameters (Y_H , b_H , f and b_E) in specifically designed experiments. Many of the results presented in the paper were based on tests using activated sludge grown on a soluble and completely

biodegradable substrate (sodium acetate). Theoretical and experimental aspects of determination of these parameters are presented and discussed, and their effects on modeling are highlighted.

6.1.1 Background

6.1.1.1 Clarification of endogenous respiration versus death-regeneration modelling of decay

Two models are commonly used to describe the generation of the endogenous residue in activated sludge systems (Fig. 6.1): the endogenous respiration model of McKinney (1960) and the death-regeneration model of Dold et al. (1980). The latter approach was introduced for systems with anaerobic zones because the endogenous respiration concept explicitly requires presence of an electron acceptor (oxygen or nitrate). Ramdani et al. (2010) demonstrate how the two approaches provide equivalent predictions for aerobic systems. The endogenous respiration approach is used in this paper. Equations (6.1), (6.2) and (6.3) quantify the decay of the heterotrophic biomass, the generation of the endogenous residue and the oxygen consumption rate (Ramdani et al., 2010).

$$\frac{dX_H}{dt} = -b_H * X_H \quad (6.1)$$

$$\frac{dX_E}{dt} = f * b_H * X_H \quad (6.2)$$

$$O_C = (1 - f) * b_H * X_H \quad (6.3)$$

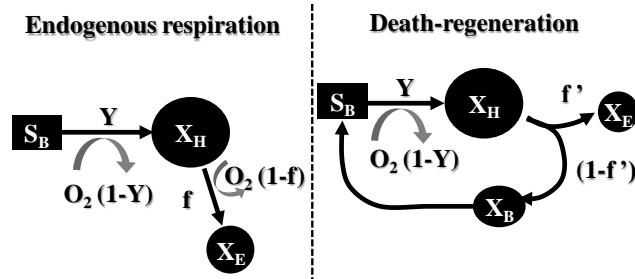


Figure 6.1 - Main processes in the endogenous respiration and death-regenerations models

6.1.1.2 Impact of Y_H , b_H and f on sludge production calculations

A literature review on values for the parameters Y_H , b_H and f used to quantify sludge production, sludge composition (X_H , X_E and $X_{U,Inf}$) and carbonaceous oxygen demand reveals significant differences for each parameter (Table 6.1). The impact of this set of parameters on the behaviour of a given activated sludge system over a wide range of SRTs (1 to 50 d) is highlighted in Figure 6.2 using four different sets of parameters Y_H , b_H and f selected from Table 6.1: Barker and Dold (1997), ASM2d from Henze et al. (2000), Metcalf & Eddy (2003) and Kappeler and Gujer (1992). In the last reference, a b_H value of 0.40 d^{-1} was considered for Figure 6.2. The ratios expressing the masses of X_H , X_E , $X_{U,Inf}$, VSS and oxygen consumption (O_C) per unit of influent total COD (COD_{inf}) are presented in equations (6.4) to (6.7) based on the formulation in Dold (2007). In these equations, the symbol P indicates the mass rate (or production) of parameters. For example, the term PX_H/PCOD_{inf} represents the mass of X_H produced per unit influent COD. The sludge fractions are determined as indicated in equations (6.8), (6.9) and (6.10).

Table 6.1- Parameters of the endogenous respiration models

Reference	Y_H g COD.g COD ⁻¹	b_H d ⁻¹	f -
Barker and Dold (1997)	0.666	0.240	0.200
Hu et al. (2007)	0.666	0.240	0.200
Henze et al. (2000)-ASM2	0.630	0.173	0.231
Henze et al. (2000)-ASM2d	0.625	0.175	0.229
Metcalf & Eddy (2003) ^(*)	0.568	0.120	0.150
Kappeler and Gujer (1992)	0.670	0.100 - 0.400	0.200

^(*) typical values

- Production of X_H , X_E , $X_{U,Inf}$ and VSS

$$\frac{PX_H}{\text{PCOD}_{inf}} = (1 - f_{US} - f_{UP}) * \frac{Y_H}{(1 + b_H * \text{SRT})} \quad (6.4)$$

$$\frac{PX_E}{\text{PCOD}_{inf}} = (1 - f_{US} - f_{UP}) * \frac{Y_H * f * b_H * \text{SRT}}{(1 + b_H * \text{SRT})} \quad (6.5)$$

$$\frac{PX_{U,Inf}}{PCOD_{Inf}} = \frac{f_{UP}}{f_{CV,U}} \quad (6.6)$$

$$\frac{PVSS}{PCOD_{Inf}} = (1 - f_{US} - f_{UP}) * \frac{Y_H}{(1 + b_H * SRT)} * (1 + f * b_H * SRT) + \frac{f_{UP}}{f_{CV,U}} \quad (6.7)$$

- *Carbonaceous oxygen consumption O_C*

$$\frac{PO_C}{PCOD_{Inf}} = (1 - f_{US} - f_{UP}) * \left[(1 - f_{CV,H} * Y_H) + f_{CV,H} * (1 - f) * b_H * \frac{Y_H * SRT}{(1 + b_H * SRT)} \right] \quad (6.8)$$

- *Active, endogenous and influent unbiodegradable fractions F_A , F_E and $F_{U,Inf}$*

$$F_A = \frac{1}{\left[1 + f * b_H * SRT \right] + \left(\frac{f_{UP}}{f_{CV,U}} \right) * \left[\frac{1 + b_H * SRT}{(1 - f_{US} - f_{UP}) * Y_H} \right]} \quad (6.9)$$

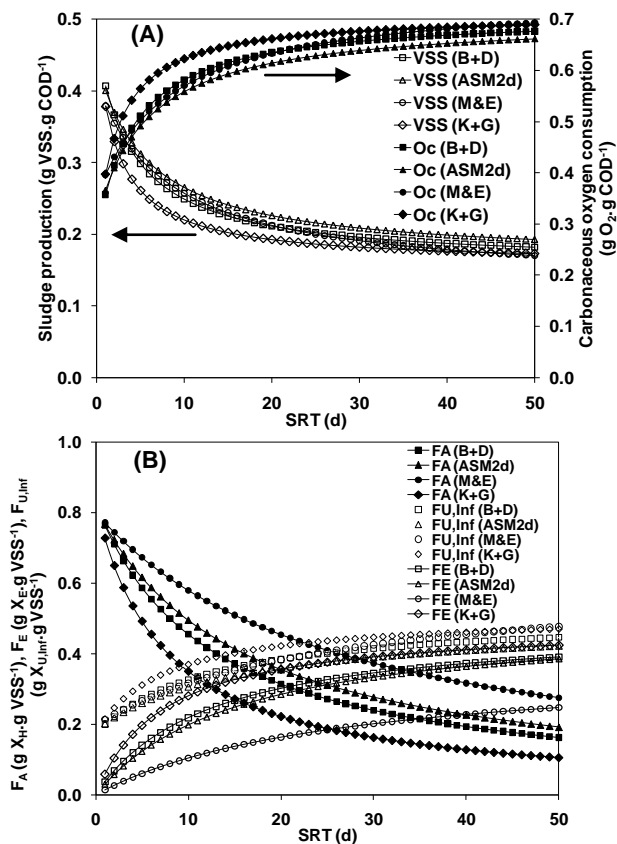
$$F_E = \frac{1}{\left[1 + \frac{1}{f * b_H * SRT} \right] + \left(\frac{f_{UP}}{f_{CV,U}} \right) * \left[\frac{1 + b_H * SRT}{f * b_H * SRT * (1 - f_{US} - f_{UP}) * Y_H} \right]} \quad (6.10)$$

$$F_{U,Inf} = \frac{1}{1 + \left(\frac{f_{UP}}{f_{CV,U}} \right) * (1 - f_{US} - f_{UP}) * Y_H * \left[\frac{1 + f * b_H * SRT}{1 + b_H * SRT} \right]} \quad (6.11)$$

Plots in Figure 6.2 were developed considering typical raw wastewater unbiodegradable soluble (f_{US}) and unbiodegradable particulate (f_{UP}) fractions of 0.05 and 0.13, respectively, and COD:VSS conversion factors for X_H and X_U ($f_{CV,H}$, $f_{CV,U}$) of 1.42 and 1.60 g COD.g VSS⁻¹, respectively. The sludge production (g VSS.g COD⁻¹) and carbonaceous oxygen consumption (g O₂.g COD⁻¹) show relatively small differences between the four selected sets of parameters (Fig. 6.2A). However, predictions of the active and endogenous fractions of sludge indicate a large difference between the four set of parameters (Fig. 6.2B). For example, at an SRT of 20 days, predicted active fractions are 0.31, 0.36, 0.45 and 0.22; predicted endogenous fractions are 0.30, 0.29, 0.16 and 0.36; and predicted influent unbiodegradable fractions are 0.38, 0.36, 0.38 and 0.42, using the four selected sets of parameters from Barker and Dold (1997), ASM2d of Henze et al. (2000), Metcalf & Eddy (2003) and Kappeler and Gujer (1992), respectively.

Following this preliminary comparison, it appears that the set of parameters (Y_H , b_H , f) has a significant impact on predicting the sludge composition. This comparison suggests that one set of parameters may provide similar predictions of the sludge production (VSS) and the oxygen consumption (O_C); however, the predicted proportions of X_H and X_E and $X_{U,Inf}$ in the sludge may differ substantially. These proportions are important to explain the behaviour of activated sludge systems particularly at long SRTs where the endogenous residue predominates, and also for the subsequent treatment of waste activated sludge. These observations prompt a number of questions:

- Which is the ‘correct’ (Y_H , b_H , f) parameter set? Does the heterotrophic biomass grow with a constant yield coefficient Y_H ?
- How should the parameters Y_H , b_H , and f be determined?
- If slow degradation of endogenous residue (X_E) occurs in the system, how will this impact estimation of Y_H , b_H , and f ?



Note: F_A : active fraction; $F_{U,Inf}$: influent unbiodegradable organic fraction; F_E : endogenous fraction; (B+D): Barker and Dold (1997); (ASM2d): Henze et al. (2000)-ASM2d; (M&E): Metcalf & Eddy (2003); (K+G): Kappeler and Gujer (1992).

Figure 6.2 - Predictions of sludge production and oxygen consumption (A), and sludge organic fractions F_A , $F_{U,Inf}$ and F_E (B) for different values of Y_H , b_H and f for activated treatment of typical raw wastewater

6.1.2 Methods of determination of Y_H , b_H , f and b_E

6.1.2.1 Heterotrophic yield Y_H

6.1.2.1.1 Aerobic Y_H

The heterotrophic biomass yield (Y_H) under aerobic conditions can be determined in aerated batch tests starting from a small seed of sludge and an excess of a soluble and completely biodegradable substrate (acetate in this case). In such tests, one should monitor soluble and particulate COD and/or carbonaceous oxygen utilization rate (OUR) responses. Two methods can be used for data interpretation:

- *COD-based method*

In the growth batch test, the rate of change of the concentration of the heterotrophic biomass (X_H) is:

$$\frac{dX_H}{dt} = \mu_{\max} * \frac{S_B}{(K_S + S_B)} * X_H - b_H * X_H \quad (6.12)$$

where:

S_B = soluble readily biodegradable substrate (mg COD.L⁻¹);

μ_{\max} = maximum specific growth of X_H (d⁻¹);

K_S = substrate half-saturation constant (mg COD.L⁻¹).

If we consider that a fraction (f) of the decaying biomass remains as endogenous residue, the rate of change of particulate COD (X) is:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} * \frac{S_B}{(K_S + S_B)} * X_H - b_H * X_H + f * b_H * X_H \quad (6.13)$$

The substrate utilization rate is:

$$\frac{dS_B}{dt} = -\frac{\mu_{\max}}{Y_H} * \frac{S_B}{(K_S + S_B)} * X_H \quad (6.14)$$

The batch test is designed such that the substrate concentration is much higher than the half-saturation value. Thus, $S_B \gg K_S$ and $\frac{S_B}{(K_S + S_B)} \approx 1$. With this assumption, dividing equation

(6.13) by equation (6.14):

$$\frac{dX}{dS_B} = -Y_H * \left[1 - \frac{b_H * (1-f)}{\mu_{\max}} \right] \quad (6.15)$$

Equation (6.15) gives the slope of the plot of particulate COD versus soluble COD. The yield is calculated from this slope by assuming values of b_H , f, and μ_{\max} . The impacts of b_H , f, and μ_{\max} on the estimate of Y_H are discussed later in this paper.

- **OUR-based method**

An alternative for the determination of the yield using similar batch growth tests is to monitor the evolution of particulate COD and utilization of the electron acceptor (O₂) over time. Two processes inducing oxygen consumption are involved in such tests:

The oxygen utilization rate for growth on the exogenous substrate (r_{EXO}) is expressed by:

$$r_{EXO} = -(1 - Y_H) * \frac{dS_B}{dt} = \mu_{max} * \frac{(1 - Y_H)}{Y_H} * \frac{S_B}{(K_S + S_B)} * X_H \quad (6.16)$$

The oxygen utilization rate for the endogenous substrate (r_{ENDO}) is expressed by:

$$r_{ENDO} = (1 - f) * b_H * X_H \quad (6.17)$$

Thus, the total oxygen utilization rate (r_O) is the sum of equations (6.16) and (6.17):

$$r_O = \left[\mu_{max} * \frac{(1 - Y_H)}{Y_H} * \frac{S_B}{(K_S + S_B)} + (1 - f) * b_H \right] * X_H \quad (6.18)$$

By dividing equation (6.13) by equation (6.18) and considering that $S_B \gg K_S$, one obtains:

$$\frac{dX}{dO_C} = \left[\frac{1 - (1 - f) * \frac{b_H}{\mu_{max}}}{\frac{(1 - Y_H)}{Y_H} + (1 - f) * \frac{b_H}{\mu_{max}}} \right] \quad (6.19)$$

The equation (6.19) gives the slope of the plot of particulate COD *versus* carbonaceous oxygen utilization. The yield is calculated from this slope by assuming values for b_H , f , and μ_{max} .

6.1.2.1.2 Anoxic Y_H

Under anoxic conditions, the COD-based method can be used to determine the anoxic yield using the same equation (6.15). However, the OUR-based method is replaced by the NUR-based method (nitrate uptake rate method) since nitrate is the electron acceptor in this case. By considering a nitrate-to-oxygen equivalent coefficient of 2.86 g $\text{NO}_3\text{-N}$. g O_2^{-1} (WERF, 2003), a similar equation to equation (6.19) can be developed:

$$\frac{dX}{d\text{NO}_3} = \left[2.86 * \frac{1 - (1-f) * \frac{b_H}{\mu_{\max}}}{\left(\frac{1-Y_H}{Y_H} \right) + (1-f) * \frac{b_H}{\mu_{\max}}} \right] \quad (6.20)$$

6.1.2.1.3 Mass balances

In the experimental determination of the yield coefficient (Y_H), COD mass balances should be performed as a check on the validity of the experimental data. This is possible for the OUR-based method under aerobic conditions and for the NUR-based method under anoxic conditions. The following equations were used to develop such mass balances:

- *Aerobic conditions*

$$B_{\text{COD}} (\%) = 100 * \frac{\text{COD}(t_{\text{end}}) + \text{COD}_{\text{oxidized}}}{\text{COD}(0)} \quad (6.21)$$

where:

$\text{COD}(0)$ = COD at the start of the aerobic batch test (mg COD.L⁻¹);

$\text{COD}(t_{\text{end}})$ = COD at the end of the aerobic batch test (mg COD.L⁻¹);

$\text{COD}_{\text{oxidized}}$ = COD oxidized during the aerobic batch test (mg COD.L⁻¹).

The $\text{COD}_{\text{oxidized}}$ in the test is given by:

$$\text{COD}_{\text{oxidized}} = \left[\int_0^{t_{\text{end}}} \text{OUR}(t) * dt \right] - [4.33 * \Delta\text{NO}_3] - [3.22 * \Delta\text{NO}_2] \quad (6.22)$$

where:

OUR(t) = oxygen uptake rate at time t of the batch test (mg O₂.L⁻¹.h⁻¹)

ΔNO₃ = amount of nitrate generated during the batch test (mg N.L⁻¹)

ΔNO₂ = the amount of nitrite generated during the batch test (mg N.L⁻¹)

- **Anoxic conditions**

The same equation (6.21) is used to develop COD mass balances under anoxic conditions. The COD oxidized is determined as follows:

$$\text{COD}_{\text{oxidized}} = 2.86 * [\Delta\text{NO}_3 - 0.6 * \Delta\text{NO}_2] \quad (6.23)$$

where:

ΔNO₃ = amount of nitrate utilised during the batch test (mg N.L⁻¹);

ΔNO₂ = amount of nitrate generated during the batch test (mg N.L⁻¹);

It should be noted that the term -0.6 *ΔNO₂ was introduced to correct the concentration of nitrate since some amount of nitrite NO₂ was observed in anoxic batch tests indicating that some nitrate is reduced to nitrite rather than to gaseous nitrogen N₂. Detailed information on this aspect can be found in Copp and Dold (1998b).

6.1.2.2 Endogenous decay rate b_H

6.1.2.2.1 Aerobic b_H

One approach for estimating the endogenous decay rate (b_H) of the active heterotrophic biomass is to perform an aerated batch digestion test on mixed liquor from the activated sludge system. Two approaches can be applied to estimate the endogenous decay rate coefficient from the batch

test data: *VSS-based* and *OUR-based* methods. Theoretical and experimental aspects of these methods are presented in Ramdani et al. (2010).

- ***VSS-based method***

In this method the change of the volatile suspended solids concentration in the batch test is monitored over time. The VSS concentration in the batch digester is given by equation (6.24):

$$VSS(t) = VSS_U + (1-f) * F_A * VSS(0) * e^{(-b_H * t)} \quad (6.24)$$

where:

$VSS(t)$ = VSS concentration at time t (mg VSS. L^{-1})

$VSS(0)$ = VSS concentration at time 0 (mg VSS. L^{-1})

VSS_U = VSS concentration at the end of the batch test (mg VSS. L^{-1})

b_H = endogenous decay rate (d^{-1})

f = endogenous residue fraction (-)

F_A = active fraction of sludge (g VSS. g VSS $^{-1}$)

- ***OUR-based method***

The oxygen uptake rate at time t ($OUR(t)$) in the aerobic digester is given by:

$$OUR(t) = (1-f) * (1 + 4.57 * f_N) * b_H * F_A * VSS(0) * e^{(-b_H * t)} \quad (6.25)$$

where:

$VSS(0)$ = initial VSS concentration (COD units)

f_N = heterotrophic biomass nitrogen content (≈ 0.07 mg N/mg COD).

In both methods, b_H and F_A are determined using non linear or linear regressions to fit observed and calculated VSS and OUR *versus* time data (Ramdani et al., 2010). Tests described in this work were performed for 21 days and the decay of the endogenous residue was not considered. This issue is discussed later in this paper in assessing the effect of biodegradation of X_E on the parameter b_H .

6.1.2.2.2 Anoxic b_H

The endogenous decay rate (b_H) of the active heterotrophic biomass under anoxic conditions can be determined through an unaerated batch digestion test on mixed liquor from the activated sludge system, but where nitrate is always present. Three approaches can be used in the data analysis: *VSS-based*, *NH₄-based* and *NUR-based* methods. The VSS-based method is similar to that for aerobic conditions except that the batch test is unaerated but is performed in the presence of nitrate.

- ***NH₄-based method***

Under anoxic conditions, ammonia will accumulate over time as result of the release of the heterotrophic biomass organic nitrogen and the absence of nitrification process. The rate of change in ammonia is proportional to the decay rate of the active biomass.

$$\frac{dNH_4}{dt} = -f_N * \frac{dX_H}{dt} = f_N * b_H * X_H \quad (6.26)$$

$$X_H(t) = X_H(0) * e^{(-b_H * t)} \quad (6.27)$$

$$NH_4(t) = NH_4(0) + f_N * F_A * VSS(0) * \left[1 - e^{(-b_H * t)} \right] \quad (6.28)$$

After a long period of anoxic digestion, the active heterotrophic biomass is depleted and the ammonia concentration will reach an ultimate value NH_{4U} given by the following equation:

$$NH_{4U} = NH_4(0) + f_N * F_A * VSS(0) \quad (6.29)$$

Thus, the concentration of ammonia over time is expressed by:

$$NH_4(t) = NH_{4U} - f_N * F_A * VSS(0) * e^{(-b_H * t)} \quad (6.30)$$

- ***NUR-based method***

The nitrate utilization rate (NUR) in an unaerated test is proportional to the active heterotrophic concentration. An equivalent equation similar to equation (6.25) can be developed. No term related to nitrification is required under anoxic conditions:

$$NUR(t) = \frac{1}{2.86} * (1 - f) * b_H * F_A * VSS(0) * e^{(-b_H * t)} \quad (6.31)$$

In this equation, VSS (0) is expressed in COD units.

In the three methods, linear or non linear regressions are used to fit observed and calculated VSS, NH_4 and NUR *versus* time data.

6.1.2.3 Endogenous fraction f

6.1.2.3.1 Previous work on f determination

In the endogenous respiration concept it is assumed that, when active biomass decays, a fraction (f) remains as endogenous residue. The first experimental work performed to determine the value of f is reported in Washington and Symons (1962). To target on the accumulation of the endogenous residue in this work, a fill-and-draw sequencing batch reactor fed a constant organic load of 1 g.d^{-1} of sodium acetate was operated at complete retention of solids for 15 weeks. Data indicate that the system reached an equilibrium point after 4 weeks after which the newly formed heterotrophic biomass was balanced by the decayed biomass Washington and Symons (1962). From this point the apparently linear accumulation of VSS in the system was entirely attributed to the accumulation of the endogenous residue. During this period, the mass of VSS (i.e. endogenous residue) generated daily was related to the newly formed heterotrophic biomass by the following equation:

$$P\Delta\text{VSS} = f * Y_H * P\Delta S_B \quad (6.32)$$

where:

$P\Delta\text{VSS}$ = daily accumulation of VSS (g VSS.d^{-1})

$P\Delta S_B$ = daily load of soluble substrate (g COD.d^{-1})

Y_H = heterotrophic yield (g VSS. g COD^{-1})

From equation (6.32), the determined value of f was 0.19 (Dold, 2007).

It is important to note that the biodegradation of the endogenous residue was not considered in the work of Washington and Symons (1962) even if their system was operated at complete retention of solids for 15 weeks. This issue is discussed later in this paper.

6.1.2.3.2 Proposed approach for f determination

In this study the endogenous residue fraction f was determined based on the operation of an aerobic membrane bioreactor receiving a soluble and completely biodegradable influent (sodium acetate) and operated at a given SRT. Activated sludge generated in this system was essentially composed of X_H and X_E ; the amount of nitrifying biomass (X_{ANO}) was very small as was the residual slowly biodegradable material X_B . Using steady state equations (6.33), (6.34) and (6.35) for generation of VSS, X_H , X_E , and assuming reasonable values of X_{ANO} and X_B , one can estimate the f value. No degradation of the endogenous residue was considered in these equations since a system operated at a relatively short SRT (10.4 days) was considered in the tests performed to determine f .

$$VSS = X_H + X_E + X_{ANO} + X_B \quad (6.33)$$

$$X_H = \frac{Y_H * \Delta S_B * SRT}{(1 + SRT * b_H) * HRT} \quad (6.34)$$

$$X_E = f * b_H * SRT * X_H = VSS - X_H - X_{ANO} - X_B \quad (6.35)$$

$$f = \frac{X_E}{b_H * SRT * X_H} \quad (6.36)$$

where:

ΔS_B = consumed substrate in the system (mg COD. L⁻¹)

HRT = hydraulic retention time (d)

SRT = sludge retention time (d)

Y_H = heterotrophic yield (g VSS. g COD⁻¹)

b_H = endogenous decay rate (d⁻¹)

6.1.2.4 Endogenous residue decay rate b_E

The potential decay of endogenous residue was investigated in long-term (80 day) aerobic digestion tests. A membrane bioreactor (MBR) aerobic activated sludge system was operated with a synthetic feed (acetate) at a fixed SRT. Each day the waste activated sludge from this

system was added to a second aerobic MBR (referred to as the MDU, membrane digestion unit). The accumulation of VSS in the second MBR was monitored, along with several other parameters. If there is degradation of endogenous residue (X_E) in the MDU then the increase in VSS over time should not be linear, and should eventually plateau at a constant value. It should then be possible to determine a decay rate parameter for the endogenous residue (b_E) from analysis of the VSS response data. The decay of endogenous residue was considered to occur according to first-order kinetics. Mathematical development for this approach is presented in the Appendix.

6.2 Material and Methods

Activated sludge for most of the experiments performed in this study was produced in a 200 L-pilot scale membrane bioreactor (MBR, using a Zenon hollow fiber membrane module ZW10, pore size of 0.04 mm), receiving a synthetic and completely biodegradable influent with acetate as a sole carbon source. This system is described with more detail in Ramdani et al. (2010). The synthetic influent fed to this system had the following average characteristics: flow of 445 L.d⁻¹, COD of 363 mg.L⁻¹, TKN of 26.6 mg N.L⁻¹ and TP of 6.35 mg P.L⁻¹.

6.2.1 Endogenous decay rate b_H

- *Aerobic conditions*

The endogenous decay rate of the MBR mixed liquor was determined in 21-day aerobic digestion batch tests by monitoring either the VSS or the OUR (oxygen uptake rate) response according to Ramdani et al. (2010). In these experiments, dissolved oxygen was maintained in the range of 2-3 mg O₂.L⁻¹ and pH was controlled in the range 7.0-7.3 by adding sodium bicarbonate (salt) when it decreased to 7.0 as result of nitrification of organic nitrogen available from heterotrophic biomass decay. The parameters monitored in these tests were: VSS, COD, NH₄, NO₂ and NO₃.

- *Anoxic conditions*

Three methods were used to determine the anoxic decay rate constant in anoxic conditions: VSS-based, NH₄ and NUR-based methods. The experimental set-up for anoxic batch tests was similar to the aerobic ones except that nitrate was supplied instead of oxygen to maintain a daily concentration of about 40 mg NO₃-N.L⁻¹ in the batch reactor. The MBR mixed liquor (VSS of

1387 mg VSS.L⁻¹) was concentrated about 3 times before starting the anoxic batch tests to measure significant values of NUR.

This anoxic system was closed to the atmosphere and gaseous nitrogen was continuously bubbled at a very low rate to prevent any oxygen entrainment. The medium was regularly acidified to maintain pH in the range of 7.5 to 7.8 by adding one to two drops of a 3 M HCl solution. The parameters monitored in these tests were VSS, COD, NH₄, NO₂ and NO₃.

In the NUR-based method, measurements of nitrate uptake rate were performed daily for a period of 9 days. For each NUR measurement, concentrations of nitrite and nitrate were determined for 2 to 2.5 h at 20 to 30 minutes intervals. The slope of the nitrate decrease over time gave the NUR measurement at various times of digestion.

6.2.2 Heterotrophic yield Y_H

The same experimental setup was used for the determination of the heterotrophic yield under either aerobic or anoxic conditions. Nitrate was supplied in anoxic tests instead of air, and gaseous nitrogen was bubbled continuously to prevent any entrainment of atmospheric oxygen. In both conditions, a small seed of mixed liquor from the pilot-scale MBR (60 mL, VSS of 1387 mg. L⁻¹) or from the activated sludge wastewater treatment plant of the City of Saint-Hyacinthe (Canada) (50 mL, VSS of 2100 mg. L⁻¹) was added to 2 L of growth medium constituted of acetate as sole carbon source and containing all necessary macro-elements (N, P, Ca, Mg, S, K, Fe) and trace elements (Cu, Zn, Co, F, Al, Mn, B, etc.) to prevent any growth inhibition. The concentration of acetate at the start of batch tests varied from 500 to 600 mg COD.L⁻¹ and particulate COD was in the range of 50 to 80 mg COD.L⁻¹. The batch tests were conducted under various controlled temperatures in the range of 18 - 22°C; pH values were kept in the ranges of 7.0-7.3 and 7.3-7.5 during aerobic and anoxic tests, respectively. The nitrate concentration in the anoxic tests was about 100 mg NO₃-N.L⁻¹. The monitored parameters under both conditions were: total and soluble COD (0.45 μ m), nitrite and nitrate in addition to OUR that was followed up in aerobic tests. In the aerobic tests, the initial volume of the batch reactors was increased to about 20 L to ensure the availability of enough volume for OUR measurements performed by taking 300 mL of aerated sample from the batch reactor (7.5 ± 0.5 mg O₂.L⁻¹) to fill a 300 mL-BOD glass bottle which was closed to atmospheric air, mixed with a magnetic bar, provided with an oxygen probe and placed on a stirring plate. The slope of the dissolved oxygen decrease over

time (from 7 to about 4 mg O₂.L⁻¹) gave an OUR measurement at various times during the batch test. The content of the BOD bottle was not returned to the batch reactor after each OUR measurement.

The overall duration of these tests was about 30 hours. At the start of the anoxic tests, a lag period of about 24 hours was observed during which no significant consumption of soluble COD (acetate) was observed (less than 10 mg COD.L⁻¹). After this period of acclimation, the consumption of soluble COD and utilization of nitrate started.

Identical tests were performed under aerobic and anoxic conditions using sodium citrate (instead of sodium acetate) to compare the effect of the nature of substrate on the heterotrophic yield.

6.2.3 Endogenous fraction f

The pilot-scale MBR was operated at about 10.4 day-SRT and 11.7-hour HRT (steady state conditions) for more than 6 months. During this period, the MBR system was characterized on a weekly basis to determine the necessary parameters for the evaluation of the endogenous fraction f as described in section 6.1.3.3.2.

6.2.4 Aerobic endogenous decay rate b_E

20 L of wasted activated sludge from the MBR were fed daily to an aerobic accumulating membrane digestion unit (MDU) with a working volume of 130 L. This system is similar to the aerobic MBR and was operated at complete retention of solids at an HRT of 6.5 days: 20 L of permeate (effluent) are filtered from the MDU and are replaced with the 20 L of the MBR wasted sludge to keep the volume constant. In this system, the SRT is undefined since the solids are continuously building up (no wastage). The MDU was operated for 80 days to monitor the VSS accumulation.

6.2.5 Experimental plan

The determination of the endogenous decay coefficient b_H is independent of the other parameters (Y_H , f and b_E) as shown by equations (6.24), (6.30) et (6.31). Thus, experiments for the determination of b_H were first performed. The determination of the yield Y_H depends on b_H , f and μ_{\max} as indicated by equations (6.15), (6.19) et (6.20) but the effect of these three parameters on

Y_H is slight. Hence, Y_H was determined by considering the b_H value and assuming values of f and μ_{\max} . The determination of f depends on b_H and Y_H . Hence, f was determined considering results of determinations of b_H and Y_H . Finally, the parameter b_E was determined by considering values of Y_H , b_H and f .

6.2.6 Analytical methods

Analyses were mostly performed according to Standard Methods (APHA et al., 2005). Nitrogen species were analysed by a *Flow Injection Analyzer Lachat Quick Chem* methods: (NH_4 : 10-107-06-1K; NO_2 and NO_3 : 10-107-04-1O) using *Quick Chem 8500*. TOC was assessed by a *Total Organic Carbon Analyzer DC-190 (Folio Instruments Inc., Rosemount Dohrmann)*. COD measurements were performed using Hach tubes and a DR 2800 spectrophotometer.

6.3 Results and discussion

6.3.1 Aerobic and anoxic decay rate b_H

A total of 4 tests combining the VSS and OUR-based methods were conducted under aerobic conditions using the MBR mixed liquor. These tests were run for 21 days according to Ramdani et al. (2010). However, the data interpretation was limited to the first seven days of each test to neglect the effect of the possible biodegradation of the endogenous residue in such batch tests. The biodegradation of X_E was not considered in the equations (6.24) and (6.25) cited in Ramdani et al. (2010).

Under anoxic conditions, 2 batch tests combining the VSS, the NH_4 and the NUR based-methods were conducted for a total duration of 42 days considering that the anoxic decay rate was shown to be lower (about 50% or less) than the aerobic one in previous studies (Avcioglu et al., 1998; Siegrist et al., 1999). The interpretation of data for anoxic tests was restricted to the 20 first days in the VSS and NUR based-methods while in the NUR based-method the monitoring of NUR was stopped at day 9 given that measured values of NUR became not significant and experimentally not easy to determine (less than $1.5 \text{ mg NO}_3\text{-N.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

Typical examples obtained from fitting observed and measured VSS and OUR data in aerobic conditions and NUR and NH_4 data in anoxic conditions are presented in Figure 6.3.

Results of determination of the aerobic and anoxic decay rates are summarised in Table 6.2. Since the aerobic batch digestion tests were performed at different temperatures (20-24°C), equivalent values of decay rate constants at 20°C ($b_{H,20}$) were calculated based on the *Van't Hoff-Arrhenius* law expressed by the following formula: $b_{H,T} = b_{H,20} * \theta^{(T-20)}$, the assumed value of θ being 1.029 (Dold, 2007). Results in Table 6.2 show an average value $b_{H,20}$ of $0.236 \text{ d}^{-1} \pm 0.006$ and $0.126 \text{ d}^{-1} \pm 0.004$ for aerobic and anoxic tests, respectively. These results indicate an excellent concordance between the OUR and the VSS-based methods in aerobic tests and the VSS, the NH_4 and the NUR based-methods in the anoxic batch tests. The aerobic endogenous decay rate is in agreement with the value of 0.24 d^{-1} reported in (Barker and Dold, 1997; Dold, 2007; Hu et al., 2007) but is shown to be two times the typical value reported in (Metcalf & Eddy, 2003) and to be out of the range suggested in this reference ($0.06 - 0.20 \text{ d}^{-1}$). In Table 6.1, an equivalent value of the aerobic endogenous decay rate b_H of 0.173 d^{-1} was calculated based on the death-regeneration model endogenous decay rate b_H' of 0.40 d^{-1} suggested in ASM2d (Henze et al., 2000). This b_H value is also lower than our value of 0.236 d^{-1} .

Under anoxic conditions, an average value of $0.126 \text{ d}^{-1} \pm 0.004$ was determined in our work (Table 6.2). This value is higher than the value of 0.05 d^{-1} reported in (Avcioglu et al., 1998; Metcalf & Eddy, 2003) and slightly higher than the average value of $0.10 \text{ d}^{-1} \pm 0.05$ found in (Siegrist et al., 1999). Our results indicate that the anoxic endogenous decay rate is about 50% of the aerobic decay rate.

The integrity of the results obtained was checked using COD mass balances in the aerobic tests performed according to the OUR-based method and in the anoxic tests using the NUR-based method. Mass balances were shown to be close to 100% for all the tests (Table 6.2).

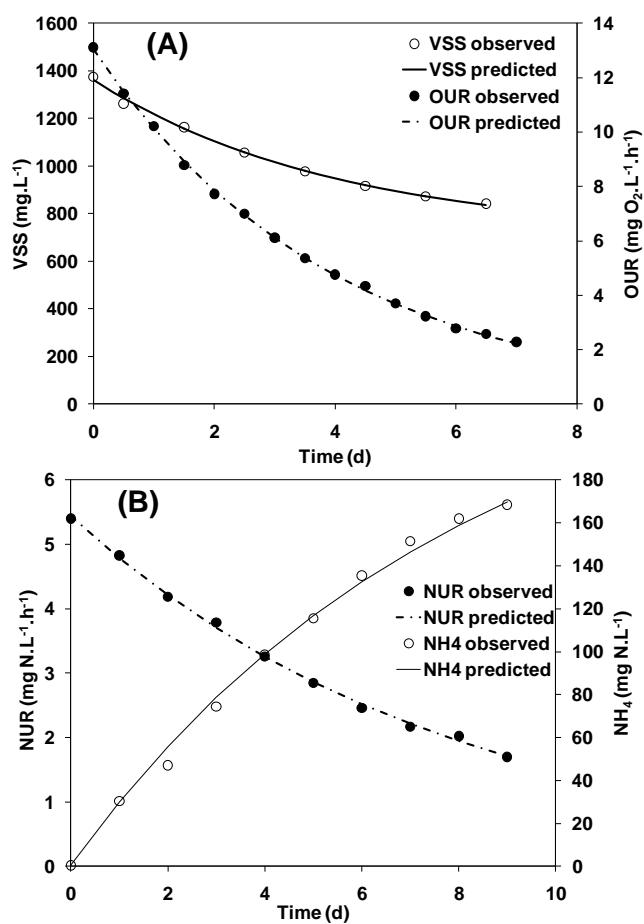


Figure 6.3 Typical examples of fitting observed and predicted VSS and OUR under aerobic conditions (A) and NH₄ and NUR under anoxic conditions (B)

Table 6.2 - Summary of determination of the aerobic and anoxic decay rates

	VSS	T	$b_{H,T}$	$b_{H,20}$	COD balance
	(mg/L)	(°C)	(d^{-1})	(d^{-1})	(%)
Aerobic tests	<i>VSS-based method</i>				
	1385	20	0.243	0.243	-
	1376	22	0.249	0.236	-
	1367	23	0.250	0.230	-
	1397	24	0.260	0.232	-
	<i>OUR-based method</i>				
	1385	20	0.242	0.242	100.9
	1376	22	0.253	0.239	96.9
	1367	23	0.254	0.233	97.1
	1397	24	0.262	0.234	97.4
	Mean			0.236	98.1
	std			0.005	1.9
Anoxic tests	<i>VSS-based method</i>				
	4160	20	0.124	0.124	-
	4145	20	0.121	0.121	-
	<i>NH₄-based method</i>				
	4160	20	0.128	0.128	-
	4145	20	0.124	0.124	-
	<i>NUR-based method</i>				
	4160	20	0.131	0.131	101.9
	4145	20	0.128	0.128	100.9
	Mean			0.126	101.4
	std			0.004	0.7

6.3.2 Aerobic and anoxic heterotrophic yield Y_H

Under aerobic testing conditions, a total of 6 batch tests were performed starting with sludge inoculums originating either from the 200 L laboratory MBR or from the St-Hyacinthe WWTP. The COD and OUR-based methods were combined and used for data interpretation in 4 tests. Figure 6.4 presents typical results from a test combining these two methods: profiles of OUR and cumulative oxygen consumed are shown in Figure 6.4A while plots of particulate COD versus soluble COD and particulate COD versus oxygen utilised are presented in Figure 4B. In these plots, the consumption of oxygen was corrected considering the amount of nitrite and nitrate generated in the test according to Copp and Dold (1998b). The corrected cumulative oxygen

corresponding to the carbonaceous substrate consumption at time t of the batch test is given by the following equation:

$$O_C(t) = \left[\int_0^t OUR(t) \cdot dt \right] - [4.33 \cdot \Delta NO_3] - [3.22 \cdot \Delta NO_2] \quad (6.37)$$

where:

$OUR(t)$ = oxygen uptake rate at time t of the batch test ($mg\ O_2.L^{-1}.h^{-1}$)

ΔNO_3 = amount of nitrate generated in the batch test from time 0 to time t ($mg\ N.L^{-1}$)

ΔNO_2 = amount of nitrite generated in the batch test from time 0 to time t ($mg\ N.L^{-1}$)

The correction of the cumulative oxygen utilised particularly was done for some points where the particulate COD, nitrite and nitrate were experimentally determined as presented in Figure 6.4A

In Figure 6.4B, a typical example of data interpretation is presented: linear plots give slopes of - 0.543 and 1.253 for the COD and OUR-based methods, respectively. The yield is derived in both cases from the slope using equations (6.15) and (6.19) for the COD and OUR-based methods, respectively. In these equations, the average value of b_H ($0.236\ d^{-1}$) determined in the section 6.3.1 was considered and the yield was calculated using various assumed values of f (0.10, 0.15, 0.20 and 0.25) and μ_{max} (3.2, 6.4 and $13.0\ d^{-1}$).

A summary of determinations of the aerobic acetate yield is given in Table 6.3. The effect of f and μ_{max} on the yield value was shown to be minimal. Furthermore, no significant impact of the origin of mixed liquor seed used to start batch tests (MBR sludge, WWTP sludge) on the yield results was observed. These results also confirmed the agreement between the COD and OUR-based methods.

The average value of the aerobic acetate yield was $0.567 \pm 0.014\ g\ COD.\ g\ COD^{-1}$ (Table 6.3). This average value is equivalent to $0.399\ g\ VSS.\ g\ COD^{-1}$ (assuming a conversion ratio COD to VSS of 1.42 for X_H) which is in agreement to the value of $0.400\ g\ VSS.\ g\ COD^{-1}$ determined from thermodynamic calculations according to Metcalf & Eddy (2003). However, the acetate yield value determined in this study was shown to be 15% lower than the widely accepted value

for the heterotrophic yield of $0.666 \text{ g COD} \cdot \text{g COD}^{-1}$ assumed in activated sludge models for biomass growing on real wastewater (WERF, 2003).

To check the validity and robustness of our data, COD mass balances were performed for all tests using OUR-based methods using equations presented in the section 6.1.3.1.3. Results of COD mass balances were close to 100% as reported in the second footnote of Table 6.3.

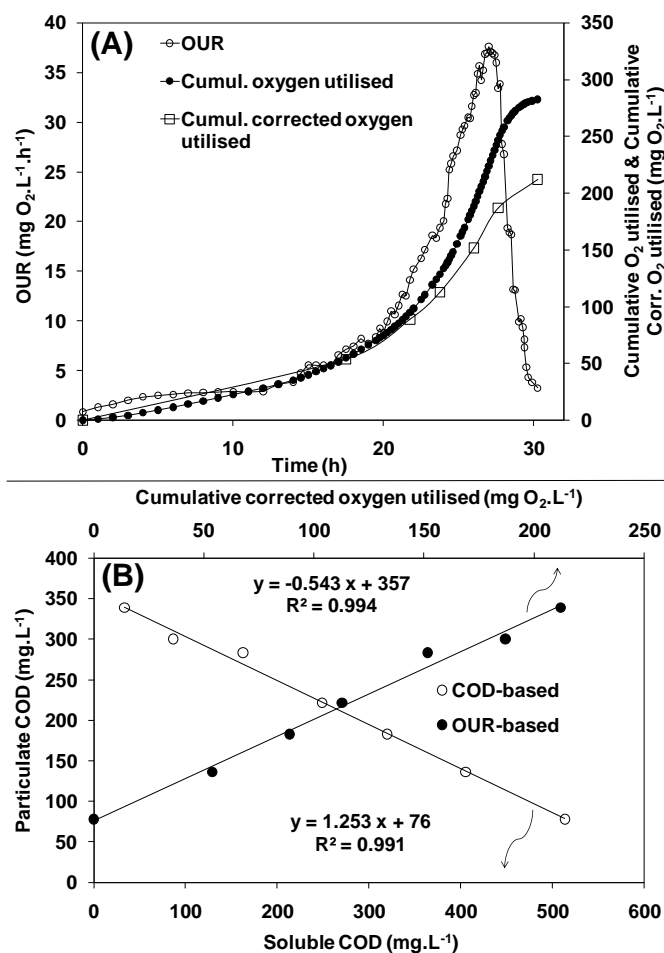


Figure 6.4 - Typical OUR and cumulative oxygen utilization profiles (A) and plots for acetate yield determination from a test combining the OUR and COD-based methods (B)

Table 6.3 - Determination of the acetate heterotrophic yield ($Y_{H,Ac}$) under aerobic conditions

f →		Y _{H,Ac} (g COD.g COD ⁻¹) as function of f (-) and μ _{max} (d ⁻¹)												
		0.10			0.15			0.20			0.25			
Seed		Test	3.2 ^a	6.4 ^a	13.0 ^a	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0
COD-based	MBR sludge	1	0.599	0.579	0.570	0.597	0.578	0.570	0.594	0.577	0.569	0.592	0.576	0.569
		2	0.579	0.560	0.551	0.577	0.559	0.551	0.575	0.558	0.550	0.573	0.557	0.550
		3	0.568	0.550	0.541	0.566	0.549	0.540	0.564	0.548	0.540	0.562	0.547	0.539
		4	0.588	0.569	0.560	0.586	0.568	0.560	0.584	0.567	0.559	0.582	0.566	0.559
	WWTP sludge	5	0.571	0.552	0.543	0.569	0.551	0.543	0.567	0.550	0.542	0.564	0.549	0.542
		6	0.582	0.563	0.554	0.580	0.562	0.554	0.578	0.561	0.553	0.576	0.560	0.553
OUR- based	MBR sludge	1	0.588	0.569	0.560	0.586	0.568	0.560	0.584	0.567	0.559	0.582	0.566	0.559
		2	0.593	0.574	0.565	0.591	0.573	0.564	0.589	0.572	0.564	0.587	0.571	0.563
	WWTP sludge	5	0.582	0.563	0.554	0.580	0.562	0.554	0.578	0.561	0.553	0.576	0.560	0.553
		6	0.586	0.567	0.558	0.584	0.566	0.557	0.582	0.565	0.557	0.579	0.564	0.556
	Mean		0.568			0.567			0.566			0.564		
	std		0.015			0.014			0.014			0.013		

^a: 3.2, 6.4 and 13.0 refer to values of μ_{max} (d⁻¹)

COD mass balances for tests 1,2,5 and 6 in the OUR-based method were: 98.2, 98.8, 98.1 and 98.7%, respectively

For anoxic conditions, data interpretation was done using the same principles of COD-based method (equation (6.15)) but with small changes in the NUR-based method (equivalent to the OUR-based method) as indicated in equation (6.20) considering the theoretical nitrate-to-oxygen conversion factor for denitrification of 2.86 g O₂.g NO₃-N (Copp and Dold, 1998b). A typical example of plots in a test combining the COD and NUR-based methods is presented in Figure 6.5. A summary of determinations of the anoxic acetate yield is given in Table 6.4. From these results, an average value of 0.404 ± 0.011 g COD. g COD⁻¹ was determined which is more than twice the value obtained using acetate in Copp and Dold (1998a). Using methanol as substrate, a value of 0.180 g VSS. g COD⁻¹ (i.e. 0.256 g COD. g COD⁻¹ assuming a conversion ratio COD to VSS of 1.42 g COD. g VSS⁻¹ for the heterotrophic biomass) is suggested in Metcalf & Eddy (2003). However, using real wastewater, values of 0.520 to 0.540 g COD. g COD⁻¹ were reported in WERF(2003).

Again, the robustness of anoxic tests was checked by performing COD mass balances using data from the NUR-based methods. COD mass balances were almost close to 100% as can indicated in the second footnote of Table 6.4.

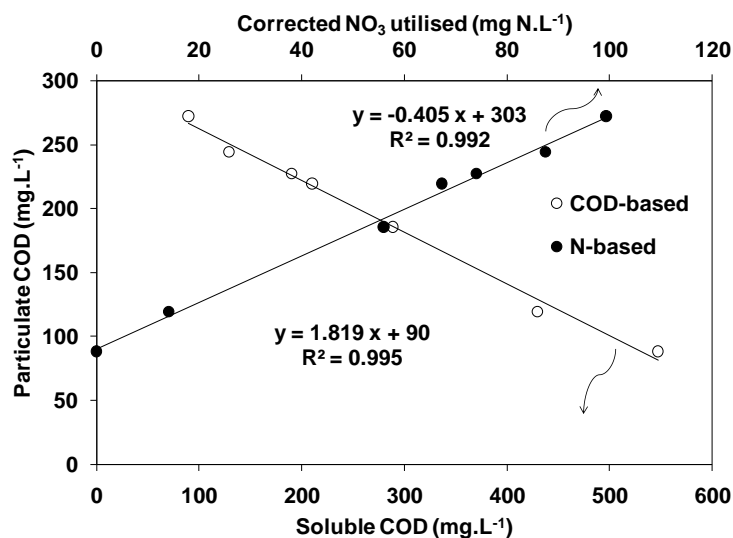


Figure 6.5 - Typical plots for anoxic yield determination from a test combining the NUR and COD-based methods

Table 6.4 - Determination of the acetate heterotrophic yield ($Y_{H,Ac}$) under anoxic conditions

		Y _{H,Ac} (g COD.g COD ⁻¹) as function of f (-) and μ _{max} (d ⁻¹)												
f →		0.10			0.15			0.20			0.25			
	Seed	Test	3.2 ^a	6.4 ^a	13.0 ^a	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0
COD-based	MBR sludge	1	0.420	0.412	0.409	0.419	0.412	0.408	0.418	0.412	0.408	0.417	0.411	0.408
		2	0.414	0.407	0.403	0.413	0.406	0.403	0.412	0.406	0.403	0.412	0.405	0.402
		3	0.432	0.424	0.421	0.431	0.424	0.420	0.431	0.424	0.420	0.430	0.423	0.420
		4	0.416	0.408	0.405	0.415	0.408	0.405	0.414	0.408	0.404	0.413	0.407	0.404
	WWTP sludge	5	0.406	0.399	0.395	0.405	0.398	0.395	0.404	0.398	0.395	0.404	0.398	0.395
		6	0.392	0.385	0.381	0.391	0.385	0.381	0.390	0.384	0.381	0.390	0.384	0.381
NUR- based	MBR sludge	1	0.403	0.396	0.392	0.402	0.395	0.392	0.401	0.395	0.392	0.401	0.395	0.392
		2	0.409	0.401	0.398	0.408	0.401	0.398	0.407	0.401	0.397	0.406	0.401	0.397
	WWTP sludge	5	0.411	0.403	0.403	0.410	0.403	0.403	0.409	0.403	0.403	0.408	0.402	0.399
		6	0.404	0.396	0.393	0.403	0.396	0.393	0.407	0.401	0.393	0.401	0.395	0.392
Mean		0.405			0.404			0.404			0.403			
std		0.011			0.011			0.011			0.011			

^a: 3.2, 6.4 and 13.0 refer to values of μ_{max} (d⁻¹)

COD mass balances for tests 1,2,5 and 6 in the OUR-based method were: 101.7, 98.0, 98.2 and 99.1%, respectively

To compare the effect of the nature of the substrate on the heterotrophic yield, identical tests under both aerobic and anoxic testing conditions were performed using sodium citrate as a sole carbon source. The results obtained are summarised in Tables 6.5 and 6.6 for aerobic and anoxic conditions, respectively. In these experiments, higher aerobic and anoxic heterotrophic yields were obtained using citrate with average values of 0.648 ± 0.020 and 0.462 ± 0.012 g COD. g COD⁻¹, respectively. These results are in agreement with the findings of Copp and Dold (1998a)

who reported average values of citric yield ranging from 0.637 to 0.687 and 0.424 to 0.512 g COD. g COD⁻¹ under aerobic and anoxic conditions, respectively. It clearly appears that the heterotrophic yield depends on the nature of substrate.

Table 6.5 - Determination of the citrate heterotrophic yield ($Y_{H,Ci}$) under aerobic conditions

f →		Y _{H,Ci} (g COD.g COD ⁻¹) as function of f (-) and μ _{max} (d ⁻¹)												
		0.10			0.15			0.20			0.25			
	Seed	Test	3.2 ^a	6.4 ^a	13.0 ^a	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0
COD-based	MBR sludge	1	0.666	0.644	0.634	0.663	0.643	0.633	0.661	0.642	0.633	0.659	0.641	0.632
		2	0.684	0.662	0.651	0.681	0.661	0.651	0.679	0.659	0.650	0.676	0.658	0.649
		3	0.697	0.673	0.661	0.694	0.672	0.661	0.691	0.670	0.660	0.689	0.669	0.660
		4	0.681	0.657	0.646	0.678	0.656	0.646	0.675	0.655	0.645	0.673	0.654	0.644
	WWTP sludge	5	0.658	0.637	0.627	0.656	0.636	0.626	0.653	0.635	0.626	0.651	0.634	0.625
		6	0.679	0.657	0.646	0.676	0.655	0.645	0.674	0.654	0.645	0.671	0.653	0.644
OUR- based	MBR sludge	1	0.669	0.647	0.637	0.666	0.646	0.636	0.664	0.645	0.635	0.661	0.644	0.645
		2	0.661	0.640	0.629	0.658	0.638	0.629	0.656	0.637	0.628	0.654	0.636	0.628
	WWTP sludge	5	0.639	0.619	0.609	0.637	0.618	0.608	0.635	0.616	0.608	0.632	0.615	0.607
		6	0.650	0.629	0.619	0.648	0.628	0.618	0.645	0.627	0.618	0.643	0.626	0.617
	Mean		0.650			0.649			0.647			0.646		
	std		0.021			0.020			0.020			0.019		

^a: 3.2, 6.4 and 13.0 refer to values of μ_{max} (d⁻¹)

COD mass balances for tests 1,2,5 and 6 in the OUR-based method were: 98.8, 102.5, 101.8 and 100.4%, respectively

Table 6.6 - Determination of the citrate heterotrophic yield ($Y_{H,Ci}$) under anoxic conditions

f →		Y _{H,Ci} (g COD.g COD ⁻¹) as function of f (-) and μ _{max} (d ⁻¹)												
		0.10			0.15			0.20			0.25			
Seed	Test	3.2 ^a	6.4 ^a	13.0 ^a	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0	3.2	6.4	13.0	
COD-based	MBR sludge	1	0.457	0.449	0.445	0.456	0.449	0.445	0.456	0.448	0.445	0.455	0.448	0.444
		2	0.455	0.447	0.443	0.454	0.446	0.443	0.453	0.446	0.442	0.452	0.446	0.442
		3	0.475	0.466	0.462	0.474	0.466	0.462	0.473	0.465	0.462	0.472	0.465	0.461
		4	0.464	0.456	0.452	0.463	0.455	0.451	0.462	0.455	0.451	0.461	0.454	0.451
	WWTP sludge	5	0.494	0.485	0.481	0.493	0.484	0.480	0.492	0.484	0.480	0.491	0.483	0.480
		6	0.474	0.465	0.461	0.473	0.465	0.461	0.472	0.465	0.461	0.471	0.464	0.461
NUR- based	MBR sludge	1	0.465	0.457	0.453	0.464	0.456	0.452	0.463	0.456	0.452	0.462	0.455	0.452
		2	0.460	0.452	0.448	0.459	0.451	0.447	0.458	0.451	0.447	0.457	0.450	0.447
	WWTP sludge	5	0.482	0.473	0.469	0.481	0.473	0.469	0.480	0.472	0.468	0.479	0.472	0.468
		6	0.470	0.461	0.457	0.469	0.461	0.457	0.468	0.460	0.456	0.467	0.460	0.456
	Mean		0.463			0.462			0.461			0.461		
	std		0.013			0.012			0.012			0.012		

^a: 3.2, 6.4 and 13.0 refer to values of μ_{max} (d⁻¹)

COD mass balances for tests 1,2,5 and 6 in the OUR-based method were: 99.0, 102.3, 101.3 and 98.2%, respectively

6.3.3 Endogenous fraction f

The endogenous fraction f was determined using the MBR system fed a soluble and completely biodegradable influent and operated at steady state conditions as described in the section 6.1.3.3.2. In this approach, the following parameters were monitored during 6 months of system operation: SRT, HRT, influent COD (COD_{Inf}), effluent COD (COD_{Eff}) and VSS, the substrate consumption being calculated $\Delta S (= \text{COD}_{\text{Inf}} - \text{COD}_{\text{Eff}})$. The evaluation of the parameter f required also good estimates of the residual slowly biodegradable substrate X_B and the ammonia nitrifying biomass X_{ANO} (X_B and X_{ANO} are usually considered to be negligible in activated sludge systems). The BioWin 3[®] software (with the death-regeneration parameters) was used to simulate the MBR system and to give good estimates of X_B and X_{ANO} . At an SRT of 10.4 days and HRT of 11.7 hours, BioWin 3[®] indicates values of 1.5% and 1.9% of the VSS matrix for X_B and X_{ANO} . Furthermore, the value of the endogenous decay rate determined in section 6.3.1 (0.236 d^{-1}) was considered in steady state equations.

The effluent of the MBR system was filtered using a ZW-10 membrane module with pore size of $0.04 \mu\text{m}$ and was shown to have a low COD ($9.9 \pm 1.6 \text{ mg COD} \cdot \text{L}^{-1}$). However, COD measurements at this range are not determined with a great accuracy compared to total organic carbon (TOC) measurements. Effluent TOC measurements indicated an average value of $2.05 \pm 0.06 \text{ mg C} \cdot \text{L}^{-1}$ over the MBR operating period. Using a conversion factor COD to TOC of $2.7 \text{ g COD} \cdot \text{g TOC}^{-1}$ (for effluent possible compounds: acetate and carbohydrate), values of effluent COD were calculated giving an average value of $5.5 \text{ mg} \pm 0.2 \text{ COD} \cdot \text{L}^{-1}$.

Input data required to compute the f value are summarised in Table 6.7. A total of 22 characterizations under steady state conditions were performed leading to an average f of 0.209 ± 0.005 . This result is in agreement with the widely recognised value of 0.20 suggested by Barker and Dold (1997), Hu et al. (2007), Kappeler and Gujer (1992) and is slightly higher than the value of 0.190 determined in (Dold, 2007) based on data from Washington and Symons (1962) but is higher (about 1.4 times) than the typical value suggested by Metcalf & Eddy (2003).

Table 6.7 - Determination of the endogenous residue fraction (f) from steady state conditions

Test #	COD_{inf} mg COD/L	COD_{Eff} mg COD/L	ΔS_B mg COD/L	SRT <i>d</i>	HRT <i>d</i>	VSS mg VSS/L	X_H mg VSS/L	X_{ANO} mg VSS/L	X_B mg VSS/L	X_E mg VSS/L	<i>f</i> -
1	363.4	5.4	358.0	10.38	0.486	1390	885	26.1	21.0	458	0.211
2	363.7	5.4	358.3	10.49	0.488	1377	885	25.9	20.8	445	0.203
3	363.9	5.5	358.4	10.43	0.485	1415	889	26.6	21.4	478	0.218
4	362.5	5.8	356.7	10.38	0.486	1380	882	25.9	20.8	451	0.209
5	364.8	5.4	359.4	10.39	0.482	1415	896	26.6	21.4	471	0.214
6	364.2	5.5	358.7	10.42	0.486	1380	888	25.9	20.8	446	0.204
7	364.6	5.7	358.9	10.45	0.489	1385	883	26.0	20.9	455	0.209
8	361.4	5.8	355.6	10.47	0.486	1400	881	26.3	21.1	471	0.217
9	362.2	5.8	356.4	10.44	0.486	1405	883	26.4	21.2	475	0.218
10	362.2	5.4	356.8	10.51	0.488	1375	882	25.9	20.8	447	0.204
11	364.2	5.4	358.8	10.45	0.486	1390	889	26.1	21.0	454	0.207
12	362.5	5.7	356.8	10.41	0.487	1365	881	25.7	20.6	438	0.202
13	361.8	5.7	356.1	10.51	0.486	1380	883	25.9	20.8	450	0.205
14	363.2	5.5	357.7	10.51	0.487	1375	886	25.9	20.8	443	0.202
15	364.2	5.7	358.5	10.43	0.487	1380	886	25.9	20.8	448	0.205
16	360.9	5.7	355.2	10.42	0.487	1380	877	25.9	20.8	456	0.211
17	364.9	5.4	359.5	10.43	0.488	1385	886	26.0	20.9	452	0.207
18	360.4	5.4	355.0	10.43	0.486	1375	879	25.9	20.8	450	0.208
19	364.4	5.4	359.0	10.43	0.487	1385	887	26.0	20.9	451	0.207
20	362.8	5.5	357.3	10.52	0.486	1385	887	26.0	20.9	451	0.205
21	362.2	5.4	356.8	10.43	0.487	1387	881	26.1	20.9	459	0.211
22	363.3	5.5	357.8	10.45	0.488	1395	883	26.2	21.1	465	0.214
Mean	363.1	5.5	357.5	10.44	0.487	1387	884	26.1	20.9	455	0.209
std	1.3	0.2	1.3	0.041	0.001	13	4	0.2	0.2	10.7	0.005

6.3.4 Aerobic endogenous residue decay rate b_E

To assess the aerobic endogenous residue decay rate, the accumulation of the endogenous material was monitored in an accumulating aerobic membrane digestion unit (MDU) receiving a daily volume of 20 L of mixed liquor wasted from the 10.4 day-SRT MBR system for a total duration of 80 days. The equations describing the evolution of the active fraction X_H , the endogenous residue X_E and VSS in the MDU are presented in Appendix. In this system, the concentration of the active fraction was shown to reach a constant value X_{HL} after about 4 weeks (t_L) of operation (Figure 6.6). After this point, the accumulation of VSS in the MDU was due to the accumulation of X_E ($dX_H/dt = 0$) and the concentration of X_E at a given time $t \geq t_L$ is calculated by the difference between VSS and X_{HL} . It should be noted that the X_E was shown to undergo some degradation as confirmed by the curving profile of VSS (Figure 6.6).

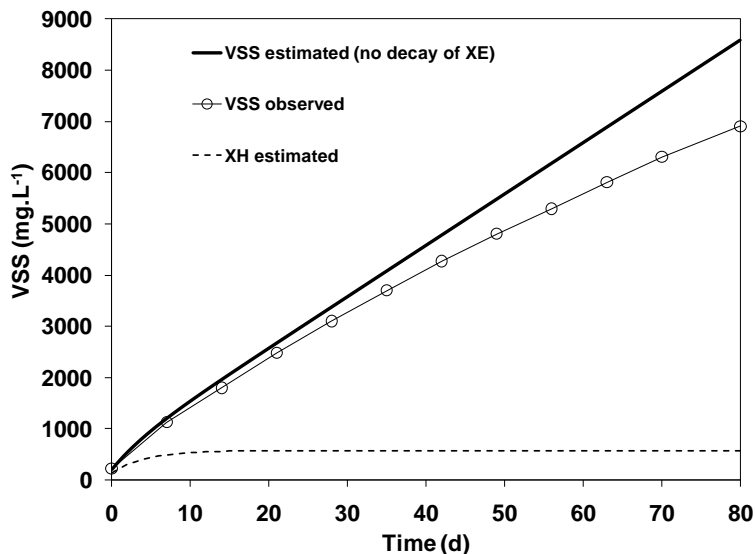


Figure 6.6 - Profiles of estimated heterotrophic biomass X_H and estimated and observed VSS in the MDU over time

A general formula (equation (6A.27) in Appendix) expressing the accumulation of X_E (ΔX_E) between times t_1 and t_2 (t_1 and $t_2 \geq t_L$) was developed. From this general formula, one can derive an expression for the endogenous fraction f (equation (6A.28) in Appendix). The expression of parameter f depends on the endogenous residue decay rate b_E .

Equation (6A.28) was used to determine the value of f for different values of t_1 and t_2 (starting from $t_1 = t_L = 28$ d and $t_2 = 35$ d) and using a range of values of b_E (0 to 0.0075 d⁻¹). The best estimate for b_E is the one providing the best estimate of parameter f experimentally determined in section 6.3.3. Calculated values of f are summarised in Table 6.8. For example for $t_1 = 28$ d and $t_2 = 35$ d, $\Delta VSS = \Delta X_E = VSS$ (@ 35 d) - VSS (@ 28 d) = 600 mg VSS.L⁻¹. For b_E values of 0.0040 , 0.0050 , 0.0060 , 0.0065 , 0.0070 and 0.0075 d⁻¹, calculated f values were 0.174 , 0.195 , 0.215 , 0.226 , 0.236 and 0.247 , respectively.

Comparing the obtained range of the endogenous fraction f with the average value of 0.209 ± 0.005 determined in the previous section, it could be concluded that b_E is comprised in the range 0.0060 - 0.0065 d⁻¹. This range is lower compared to the value of 0.012 d⁻¹ determined under aerobic conditions (at 20°C) by Lubello et al. (2009). However, in anaerobic conditions and at

35°C, b_E values of 0.050 and 0.0075 d^{-1} were determined in Ramdani et al. (2010) and Jones et al. (2008), respectively. Under alternating aerated and non aerated conditions, a b_E value of 0.012 d^{-1} was determined in Ramdani et al. (2010) at 35°C.

Table 6.8 - Determination of the endogenous decay rate b_E from the 80 day aerobic digestion test at 20°C

		$b_E = 0.0040 d^{-1}$	$b_E = 0.0050 d^{-1}$	$b_E = 0.0060 d^{-1}$	$b_E = 0.0065 d^{-1}$	$b_E = 0.0070 d^{-1}$	$b_E = 0.0075 d^{-1}$
Time interval	ΔVSS	f	f	f	f	f	f
$t_1 - t_2$	(mgVSS.L $^{-1}$)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
28 d - 35 d	600	0.174	0.195	0.215	0.226	0.236	0.247
35 d - 42 d	575	0.165	0.190	0.215	0.228	0.240	0.253
42 d - 49 d	530	0.132	0.161	0.190	0.205	0.220	0.234
49 d - 56 d	490	0.102	0.135	0.168	0.185	0.201	0.218
56 d - 63 d	515	0.148	0.186	0.225	0.245	0.265	0.285
63 d - 70 d	495	0.141	0.183	0.227	0.249	0.271	0.294
70 d - 80 d	600	0.067	0.111	0.157	0.180	0.203	0.227
	Mean	0.133	0.166	0.200	0.217	0.234	0.251
	std	0.037	0.032	0.028	0.028	0.028	0.029

The concentration of VSS in the MDU system is considered to reach a plateau (steady state conditions) after a period of operation that can be estimated by 3 times $1/b_E$. Assuming a b_E value of 0.00625 d^{-1} , the VSS plateau is reached after 480 d.

6.3.5 General discussion

The parameters of the endogenous respiration model (the heterotrophic yield Y_H , the endogenous decay rate b_H , the endogenous fraction f and the endogenous residue decay rate b_E) were evaluated in this study to examine the issue of differences in their values highlighted in Table 6.1. More particularly, the endogenous residue decay rate b_E was determined in this work for the first time based on experimental data.

A summary of determination of parameters Y_H , b_H , f and b_E is presented in Table 6.9.

Table 6.9 - Summary of determinations of Y_H , b_H , f and b_E

Parameter	Condition	Unit	Mean	std
$Y_{H,Ac}$	Aerobic	g COD. g COD ⁻¹	0.567	0.014
	Anoxic	g COD. g COD ⁻¹	0.404	0.011
$Y_{H,Ci}$	Aerobic	g COD. g COD ⁻¹	0.647	0.002
	Anoxic	g COD. g COD ⁻¹	0.462	0.012
b_H	Aerobic	d ⁻¹	0.236	0.005
	Anoxic	d ⁻¹	0.126	0.004
f	-	-	0.209	0.005
b_E	Aerobic	d ⁻¹	0.006-0.007	-

6.3.5.1 Endogenous decay rate b_H , effect of b_E

The endogenous decay rate was determined under aerobic conditions considering data over the first 7 days of the batch tests (performed over a period of 21 days). During the first week, no biodegradation of the endogenous residue X_E was assumed to occur. The average value of b_H determined with these considerations was $0.236 \text{ d}^{-1} \pm 0.005$. By considering the endogenous residue decay process using the first-order constant b_E determined in section 6.3.4 (average of the range: 0.0065 d^{-1}), the equation (6.25) giving the OUR expression was changed into equation (6.38) to consider the additional OUR due the decay of X_E . The equation giving the concentration of X_E in the 21 day aerobic digestion batch test, considering its decay, is developed in Appendix.

$$\begin{aligned}
 \text{OUR}(t) = & (1 + 4.57 * f_{NH}) * f_{CV,H} * (1 - f) * b_H * X_H(0) * e^{(-b_H * t)} \\
 & + (4.57 * f_{NE} + 1) * f_{CV,E} * b_E * \left[\frac{f * b_H * X_H(0)}{b_E - b_H} * (e^{(-b_H * t)} - e^{(-b_E * t)}) \right] \\
 & + (4.57 * f_{NE} + 1) * f_{CV,E} * b_E * \left[[VSS(0) - X_H(0)] * e^{(-b_E * t)} \right]
 \end{aligned} \quad (6.38)$$

where:

$f_{CV,H}$: is the conversion ratio COD to VSS (g COD. g VSS⁻¹) for X_H

$f_{CV,E}$: is the conversion ratio COD to VSS (g COD. g VSS⁻¹) for X_E

f_{NH} : is the nitrogen content of X_H (g N. g COD⁻¹)

f_{NE} : is the nitrogen content of X_E (g N. g COD⁻¹)

$VSS(0)$: is the VSS concentration at time 0 of the batch test (mg VSS.L⁻¹)

$X_H(0)$: is the concentration of X_H at time 0 of the batch test (mg VSS.L⁻¹)

Data interpretation using this new equation yielded an average b_H value of $0.250 \text{ d}^{-1} \pm 0.003$ under aerobic conditions. This value is about 6 % higher than the average value of b_H determined in section 6.3.1 suggesting that a good estimate of the endogenous decay rate b_H can be obtained without considering the biodegradation of the endogenous residue (i.e. $b_E = 0$).

This study confirmed that the value of the endogenous decay rate b_H is close to the value of 0.24 d^{-1} reported by Dold (2007). The range of b_H ($0.06\text{-}0.20 \text{ d}^{-1}$) with 0.12 d^{-1} as typical value suggested in (Metcalf & Eddy, 2003), the wide range of ($0.10\text{-}0.40 \text{ d}^{-1}$) reported in (Kappeler and Gujer, 1992) and the value of 0.173 d^{-1} (calculated in Table 6.1 based on the death-regeneration b_H' of 0.40 d^{-1}) presented in ASM2 (Henze et al., 2000) appear questionable.

Under anoxic conditions, the heterotrophic endogenous decay rate was shown to be about 50% of the aerobic one ($0.126 \text{ d}^{-1} \pm 0.004$). Literature review reveals limited information about this parameter in anoxic conditions: 0.05 d^{-1} was reported in Avcioglu et al. (1998) and Metcalf & Eddy (2003) and $0.10 \text{ d}^{-1} \pm 0.05$ in Siegrist et al. (1999).

The endogenous decay rate under both aerobic and anoxic environments affects the proportion of the heterotrophic biomass to be decayed (term $-b_H * X_H$ in equation (6.1)) but also the amount of the endogenous residue to be generated (term $f * b_H * X_H$ in equation (6.2)) and should be carefully determined for the design and simulation of activated sludge systems and to better understand the behaviour of mixed liquor components particularly at long SRTs.

6.3.5.2 Heterotrophic yield Y_H , effect of b_E

The heterotrophic yield was determined in this paper using two simple soluble substrates, acetate and citrate. Under aerobic conditions, results indicated that the acetate yield of $0.567 \text{ gCOD. g COD}^{-1}$ was 15% lower than the widely accepted value of $0.666 \text{ g COD. g COD}^{-1}$ for real wastewater in activated sludge models (Dold, 2007; WERF, 2003) and under anoxic conditions, the acetate yield of $0.404 \text{ g COD. g COD}^{-1}$ was about 24% lower than the range of $0.52\text{-}0.54 \text{ g COD. g COD}^{-1}$ suggested in WERF (2003). The nature of the readily biodegradable substrate, acetate versus citrate, was shown to affect the heterotrophic yield. The ratio Y_H (citrate) over Y_H (acetate) particularly was found to be constant: ratios of 1.141 and 1.144 were determined under

aerobic and anoxic conditions, respectively (based on the average values in Tables 6.5, 6.6, 6.7 and 6.8). This difference can be explained based on thermodynamic data. The amount of free energy released during the oxidation of organic material, expressed in terms of kJ per gram of COD, depends on the nature of the organic material with values of 15.04 and 13.57 kJ. g COD⁻¹ being reported in (van Haandel and Van Der Lubbe, 2007) for citrate and acetate respectively.

As for the effect of b_E on the yield results, data were interpreted considering a b_H of 0.250 d⁻¹ (average b_H determined in section 6.3.5.1 considering a b_E of 0.0065 d⁻¹). Obtained results for the acetate heterotrophic yield in aerobic conditions indicate no significant effect, the average yield value becoming: 0.569 g COD. g COD⁻¹ \pm 0.015 instead of 0.567 g COD. g COD⁻¹ \pm 0.014.

This study confirmed that the heterotrophic yield is lower under anoxic conditions compared to aerobic ones which is in agreement with findings of previous studies (Copp and Dold, 1998a; Sperandio et al., 1999; WERF, 2003). The ratio Y_H (anoxic) over Y_H (aerobic) was found to be constant: values of 0.714 and 0.713 were determined using citrate and acetate, respectively. These values are comprised in the range of 0.66-0.85 determined in (Spérandio et al., 1999).

6.3.5.3 Endogenous fraction f and endogenous residue decay rate b_E

To our knowledge, only one experiment was performed to determine the endogenous fraction f (Washington and Symons, 1962) and no experimental studies were done to evaluate the endogenous residue decay rate b_E given that the biodegradation of the endogenous residue is a recent concept. The aerobic membrane digester (MDU) operated at complete retention of solids was run for 80 days to determine the evolution of the endogenous residue X_E over time. The non linear accumulation of VSS in the MDU confirmed that the biodegradation of X_E took place. The determination of the parameter f from this experiment was not possible unless the value of b_E was determined or assumed (see equation in Appendix). Thus, the f value was first determined using steady state equations based on results from the 10.4 day-SRT MBR. Then, the MDU data were used to determine the best value of b_E allowing a good estimate of the f value. The suggested range of b_E (0.0060 - 0.0065 d⁻¹) confirms that the endogenous residue was undergoing an apparent slow biodegradation under aerobic conditions. This slow rate of biodegradation should explain why the endogenous residue was considered to be unbiodegradable in previous works dealing with aerobic systems operated at conventional short and medium SRTs (5-20 d).

Conversely to previous experimental studies (Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009) working with real wastewaters and using mixed liquors containing an endogenous residue and some unbiodegradable organics from the influent ($X_{U,Inf}$), this study has targeted specifically on the endogenous residue to quantify its biodegradation rate.

To check the effect of b_E on the parameter f , values of f were recalculated considering a b_H value of 0.250 d^{-1} (corresponding to $b_E = 0.0065 \text{ d}^{-1}$) and a yield Y_H of $0.569 \text{ g COD. g COD}^{-1}$. The obtained average value of f (0.219 ± 0.005) from steady state equations was only 4.6 % higher compared to the value of (0.209 ± 0.004) determined experimentally.

6.3.5.4 Importance of Y_H , b_H , f and b_E

As shown by Dold (2007) and section 6.1.2, it is possible to have the same sludge production and carbonaceous oxygen demand in a given activated sludge system using different sets of parameters (Y_H , b_H and f). The resulting composition of the mixed liquor (X_H , X_E particularly) is different, however. For instance, if we increase the value of b_H (considering a constant value of Y_H and f), the active heterotrophic biomass will decay faster ($-b_H * X_H$) leading to a lower active fraction and a higher endogenous residue fraction ($f * b_H * X_H$) in the system.

The composition of the mixed liquor is important to correctly predict VSS removal in aerobic and anaerobic digesters, biogas production in anaerobic digesters, and for sizing aerobic and anaerobic digesters. VSS removal principally depends on the amount of X_H in the sludge fed to aerobic or anaerobic digesters (a biodegradable component) and on the endogenous residue contained in this sludge if operating digesters at long SRTs.

6.3.5.5 Modified endogenous respiration and death-regeneration models

This study showed that the heterotrophic yield using acetate is 15% lower than with typical wastewater. The simulation of our 10 day-SRT MBR under BioWin 3[®] indicated that considering a value of $0.666 \text{ g COD. g COD}^{-1}$ for the acetate yield (assuming $f = 0.209$ and $b_H = 0.236 \text{ d}^{-1}$) results in overestimating the VSS concentration by about 19 %. It should be noted that the death-regeneration model is implemented in BioWin 3[®] and in most of available commercial simulators. In this model, the cryptic growth of the biomass on decayed material is considered (Figure 6.7C): X_B is hydrolysed into readily biodegradable S_B before being consumed by the biomass. In BioWin 3[®], the user can associate different values for the heterotrophic yield at the

same time depending on whether the activated sludge system is fed a real wastewater or a simple substrate like acetate, propionate or methanol (state variables). In the case of wastewater, the heterotrophic yield is the same ($Y_H = 0.666 \text{ g COD. g COD}^{-1}$) since the biomass is grown on S_B and decays to generate X_B which in turn is hydrolysed into S_B assimilated by the biomass using the same heterotrophic yield (Y_H). Conversely, the biomass using acetate grows according to the acetate yield ($Y_{H,Ac}$) and similarly decays to generate X_B then S_B . The nature of this S_B is not necessarily acetate and the regeneration based on this S_B should probably not occur according to the acetate yield ($Y_{H,Ac}$) but to Y_H .

Based on the death-regeneration model and the findings of this research with regards to the biodegradation of the endogenous residue, particularly at long SRTs, the modified endogenous respiration and death-regeneration model of Figures 6.7B and 6.7D are suggested assuming a first-order decay of the endogenous residue to slowly biodegradable substrate X_B , then to readily biodegradable S_B .

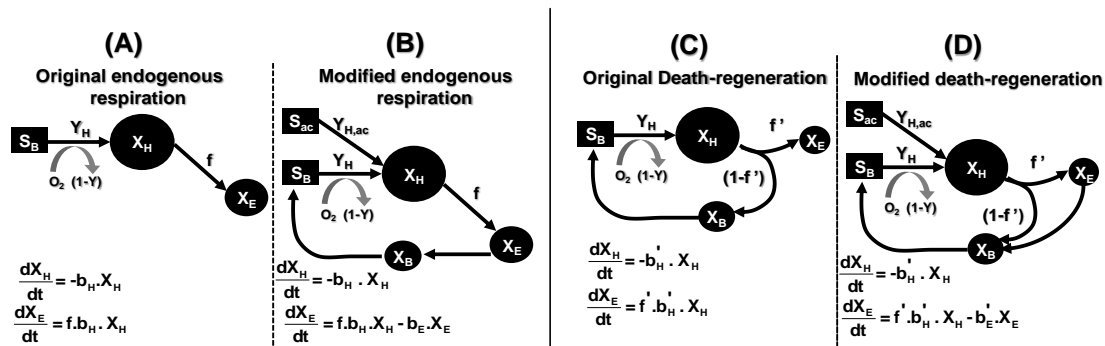


Figure 6.7 - Original (A and C) and modified (B and D) endogenous respiration and death-regeneration models

6.4 Conclusion

The objective of this paper was to develop and apply experimental methods for independently estimating the endogenous respiration model parameters. An associated objective was to consider the potential biodegradation of the endogenous residue X_E as suggested by some recent studies (Jones et al., 2008; Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009; Ramdani et al., 2010). The parameters of concern in this study were: the heterotrophic yield (Y_H), the endogenous decay rate (b_H), the endogenous decay fraction (f), and the endogenous residue decay rate (b_E). Activated sludge for

this study was generated in a 10.4 day SRT MBR fed with a soluble and completely biodegradable influent with acetate as a sole carbon source. Findings of this research are summarised as follows:

- The measured aerobic endogenous decay rate b_H (at 20°C) was close to the value of 0.24 d^{-1} reported in studies at the University of Cape Town (WRC, 1984) and used by Barker and Dold (1995). Values of b_H different from 0.24 d^{-1} reported in some previous studies (Table 6.1) appear questionable. Under anoxic conditions, the endogenous decay rate (0.126 d^{-1}) was shown to be about 50% of the value in an aerobic environment (0.236 d^{-1}).
- The estimated acetate heterotrophic yields for aerobic and anoxic conditions were 0.567 and 0.404 g COD/g COD, respectively. These are lower than values considered typical for municipal wastewaters 0.666 and 0.540 g COD/g COD, respectively. The aerobic and anoxic heterotrophic yields for growth on citrate were 0.647 and 0.462 g COD/g COD, respectively. This study confirmed that the heterotrophic yield is lower under anoxic conditions: the ratio Y_H (anoxic) to Y_H (aerobic) was approximately 0.71 using either acetate or citrate.
- The endogenous decay fraction (f) was estimated as 0.209. As with the decay rate b_H , this was close to the value of 0.20 reported in studies at the University of Cape Town (WRC, 1984) and used by Barker and Dold (1995).
- Slow biodegradation of the endogenous residue was confirmed in the MDU accumulating digester operated for 80 days. Assuming a first-order decay of the endogenous residue a decay rate constant b_E was found in the range of 0.0060-0.0065 d^{-1} at 20°C.
- In the literature suggested values for endogenous respiration parameters are often very different from those determined in this study.
- The endogenous respiration model parameters (Y_H , f , and b_H) together with the X_E decay rate parameter (b_E) affect the composition of the mixed liquor VSS matrix, in particular the proportion of X_H and X_E in the sludge. This composition is of importance to better design and predicts performance of activated sludge systems, especially at long SRTs, and the performance of solids handling units.

Acknowledgements

The authors thank Denis Bouchard, technician at the Environment Engineering Laboratory (Ecole Polytechnique of Montreal) for his technical support. This work was funded by a Collaborative Research and Development (CRD) grant from the Natural Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC) in collaboration with John Meunier Inc., Veolia Environment, EnviroSim Associates Ltd., the City of Saint-Hyacinthe and by the Canadian Water Network.

Appendix: Determination of the decay rate of the endogenous residue b_E & expression of X_E in the 21 day aerobic digestion batch tests considering its decay

Activated sludge for this experiment was generated in a 200 L aerobic membrane bioreactor (pore size of 0.04 μm , Zenon ZW10 membrane module) operated at about 10.4 day SRT and 11.7 hour HRT. Wasted sludge from this MBR ($20 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$) essentially composed of heterotrophic biomass (concentration: X_{HF}) and endogenous residue (concentration: X_{EF}), was fed to an aerobic membrane digestion unit MDU (volume, V) operated at complete solids retention. An equivalent flow rate ($20 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$) of permeate (effluent) was filtered from the MDU to keep its volume constant.

1- Mass balance for the heterotrophic biomass (X_H) in the MDU

$$V \cdot \frac{dX_H}{dt} = X_{HF} \cdot Q_F - b_H \cdot X_H \cdot V \quad (6A.1)$$

Dividing through V and rearranging:

$$\frac{dX_H}{dt} + b_H \cdot X_H = \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V} \quad (6A.2)$$

Hence:

$$\frac{dX_H}{dt} + k_1 \cdot X_H = k_2 \quad (6A.3)$$

where:

$$k_1 = b_H \text{ and } k_2 = X_{HF} \cdot Q_F / V$$

Multiplying both sides of the equation by $e^{k_1 t}$:

$$e^{k_1 t} \cdot \left[\frac{dX_H}{dt} + k_1 \cdot X_H \right] = e^{k_1 t} \cdot k_2 \quad (6A.4)$$

Re-arranging:

$$e^{k_1 t} \cdot \frac{dX_H}{dt} + k_1 \cdot e^{k_1 t} \cdot X_H = k_2 \cdot e^{k_1 t} \quad (6A.5)$$

Hence:

$$\frac{d}{dt} (e^{k_1 t} \cdot X_H) = k_2 \cdot e^{k_1 t} \quad (6A.6)$$

Integrating and re-arranging:

$$\int d(e^{k_1 t} \cdot X_H) = k_2 \cdot \int e^{k_1 t} dt \quad (6A.7)$$

Hence,

$$e^{k_1 t} \cdot X_H = \frac{k_2}{k_1} \cdot e^{k_1 t} + K \quad (6A.8)$$

We can evaluate the constant of integration K by estimating the X_H concentration at $t = 0$ (X_{H0}).

The concentration of X_H at time 0 is equal to ($X_{H0} = X_{HF} \cdot V_F / V$, V_F is the volume of the MBR sludge fed to the MDU at time 0).

$$X_{H0} = \frac{k_2}{k_1} + K \quad (6A.9)$$

$$K = X_{H0} - \frac{k_2}{k_1} \quad (6A.10)$$

Hence Eq. (A.8) becomes:

$$\begin{aligned}
 e^{k_1 t} \cdot X_H &= \frac{k_2}{k_1} \cdot e^{k_1 t} + X_{H0} - \frac{k_2}{k_1} \\
 &= \frac{k_2}{k_1} \cdot [e^{k_1 t} - 1] + X_{H0}
 \end{aligned}
 \tag{6A.11}$$

Re-arranging:

$$X_H = \frac{k_2}{k_1} \cdot [1 - e^{-k_1 t}] + X_{H0} \cdot e^{-k_1 t} \tag{6A.12}$$

Substituting for k_1 and k_2 and X_{H0} :

$$X_H = \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V \cdot b_H} \cdot [1 - e^{-b_H t}] + \frac{X_{HF} \cdot V_F}{V} \cdot e^{-b_H t} \tag{6A.13}$$

This equation indicates that the active biomass X_H will reach a constant value in the membrane digester after about 4 weeks since the term $e^{-b_H t}$ converges to 0 ($b_H = 0.24 \text{ d}^{-1}$). Thus, after about 4 weeks, one can assume that X_H is equal to the value X_{HL} :

$$X_{HL} = \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V \cdot b_H} \tag{6A.14}$$

So, for $t \geq t_L$ ($t_L \cong 28\text{d}$), the variation of X_H in the MDU essentially is:

$$\frac{dX_H}{dt} = 0 \tag{6A.15}$$

and consequently, the variation of VSS in the membrane digester is due to the accumulation of the endogenous residue for $t \geq t_L$ ($t_L \cong 28 \text{ d}$).

$$\frac{dVSS}{dt} = \frac{dX_H}{dt} + \frac{dX_E}{dt} \cong \frac{dX_E}{dt} \tag{6A.16}$$

2. Mass balance for the endogenous residue X_E

$$\frac{dX_E}{dt} = \frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot b_H \cdot X_H - b_E \cdot X_E \tag{6A.17}$$

Substituting X_H in equation (6A.17):

$$\frac{dX_E}{dt} = \frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V} - b_E \cdot X_E \quad (6A.18)$$

Hence,

$$\frac{dX_E}{dt} + b_E \cdot X_E = \frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V} \quad (6A.19)$$

Integration of this equation for $t \geq t_L$ leads to:

$$e^{b_E t} \cdot X_E = \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \cdot e^{b_E t} + K \quad (6A.20)$$

At $t = t_L = 28d$, $X_E = X_{EL}$ and $VSS_L = X_{HL} + X_{EL}$

Or,

$$X_{HL} = \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{b_H \cdot V} \quad (6A.21)$$

The integration constant K is:

$$K = e^{b_E \cdot t_L} \cdot X_{EL} - \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \cdot e^{b_E \cdot t_L} \quad (6A.22)$$

The expression of X_E is given by:

$$X_E = \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} + X_{EL} \cdot e^{-b_E(t-t_L)} - \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \cdot e^{-b_E(t-t_L)} \quad (6A.23)$$

Note: this equation is valid only for $t \geq t_L$ ($t_L \cong 28d$).

3. VSS (i.e. X_E) accumulation between t_1 and t_2 (t_1 and $t_2 \geq t_L$)

At time t_1 , the value of X_E in the MDU (X_{E1}) is:

$$X_{E1} = \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} + X_{EL} \cdot e^{-b_d(t_1 - t_L)} - \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \cdot e^{-b_d(t_1 - t_L)} \quad (6A.24)$$

At time t_2 , the value of X_E in the MDU (X_{E2}) is:

$$X_{E2} = \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} + X_{EL} \cdot e^{-b_d(t_2 - t_L)} - \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \cdot e^{-b_d(t_2 - t_L)} \quad (6A.25)$$

Hence, the accumulation of X_E (ΔX_E) in the MDU between time t_1 and t_2 is given by:

$$\begin{aligned} \Delta X_E &= X_{E2} - X_{E1} \\ &= X_{EL} \cdot (e^{-b_d(t_2 - t_L)} - e^{-b_d(t_1 - t_L)}) + \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} (e^{-b_d(t_1 - t_L)} - e^{-b_d(t_2 - t_L)}) \end{aligned} \quad (6A.26)$$

After rearranging, one obtains:

$$\Delta X_E = (e^{-b_d(t_2 - t_L)} - e^{-b_d(t_1 - t_L)}) \cdot \left(X_{EL} - \frac{\frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} + f \cdot \frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}}{b_E} \right) \quad (6A.27)$$

Solve for f :

$$f = \frac{\left[b_E \cdot \left(X_{EL} - \frac{\Delta X_E}{(e^{-b_d(t_2 - t_L)} - e^{-b_d(t_1 - t_L)})} \right) - \frac{X_{EF} \cdot Q_F}{V} \right]}{\frac{X_{HF} \cdot Q_F}{V}} \quad (6A.28)$$

Equation (6A.28) is used to determine the value of f for different values of t_1 and t_2 (starting from $t_1 = t_L = 28$ d and $t_2 = 35$ d) and using a range of values of b_E (0 to 0.0075 d^{-1}). The true value of b_E is this one allowing to give a good estimate of the of the parameter f determined experimentally.

4. Mass balance for the endogenous residue X_E in the 21 day aerobic considering its decay

$$\frac{dX_E}{dt} = f \cdot b_H \cdot X_H - b_E \cdot X_E \quad (6A.29)$$

$$\frac{dX_E}{dt} + b_E \cdot X_E = f \cdot b_H \cdot X_H(0) \cdot e^{-b_H \cdot t} \quad (6A.30)$$

The same principles of integration are used to integrate this equation.

Hence, the concentration of X_E is given by the following expression:

$$X_E = \left[\frac{f \cdot b_H \cdot X_H(0)}{b_E - b_H} \cdot \left[e^{-b_H \cdot t} - e^{-b_E \cdot t} \right] \right] + \left[[VSS(0) - X_H(0)] e^{-b_E \cdot t} \right] \quad (6A.31)$$

where:

$VSS(0)$ = VSS concentration at time zero of the batch test (mg VSS.L⁻¹)

$X_H(0)$ = Active biomass concentration at time zero of the batch test (mg VSS.L⁻¹)

CHAPITRE 7 BIODEGRADATION OF THE ENDOGENOUS RESIDUE OF ACTIVATED SLUDGE IN A MEMBRANE BIOREACTOR WITH CONTINUOUS OR ON-OFF AERATION

Abdellah Ramdani^{a,*}, Peter Dold^b, Alain Gadbois^c, Stéphane Délérès^d, Dwight Houweling^b, Yves
Comeau^a

^a Department of Civil, Geological and Mining Engineering, Ecole Polytechnique of Montreal,
P.O. Box 6079, Station centre-ville, Montreal (Quebec) H3C 3A7, Canada

^b EnviroSim Associates Ltd, McMaster Innovation Park, 175 Longwood Rd South, Suite 114A,
Hamilton (Ontario) L8P 0A1, Canada

^c John Meunier Inc., 4105, Sartelon Street, Saint-Laurent (Quebec) H4S 2B3, Canada

^d VERI, Veolia Environment, BP76, Chemin de la Digue, 76 400, Maisons-Laffitte, France

*Corresponding author. Tel.: +1 514 340 4711 (ext. 3966); Fax: +1 514 340 5918.

E-mail address: abdellah.ramdani@polymtl.ca

Cet article a été soumis à la revue *Water Research* le 22 février 2011

Abstract

The goal of this study was to determine the effect of a long sludge retention time (SRT) on the biodegradation of the endogenous residue in membrane digestion units (MDU) receiving a daily feed of sludge and operated under either aerobic or intermittent fermentation conditions. The mixed liquor for these experiments with uniform characteristics, which was composed of only two components (heterotrophy biomass X_H and endogenous residue X_E), was generated in a 10.4 day SRT membrane bioreactor fed with a synthetic and completely biodegradable influent with acetate as the sole carbon source. The MDU experiments were conducted for 80 days without any wastage. The dynamic behaviour of generation and consumption of filtered organic digestion

products was characterized in the MDU systems using three pore filter sizes. Results from this investigation indicated that the colloidal material with size between $0.04\ \mu\text{m}$ and $0.45\ \mu\text{m}$ was shown to contain a recalcitrant fraction possibly composed of polysaccharides bound to proteins which accumulated in the MDU under both conditions. Modeling the MDU results by considering a first-order decay of X_E allowed to determine values of the endogenous residue decay rate (b_E) of 0.0065 and $0.0072\ \text{d}^{-1}$ under fully aerobic and intermittent fermentation conditions, respectively. The effect of temperature on the endogenous decay rate was assessed for the intermittent fermentation conditions in batch tests using thickened sludge from the MBR system. Results from these tests gave a decay rate constant b_E of $0.0075\ \text{d}^{-1}$ at 20°C and a temperature correction factor θ of 1.033 .

Keywords: Activated sludge, endogenous residue, biodegradation, membrane digestion unit, aerobic digestion, intermittent fermentation, modeling

7.1 Introduction

Treatment of wastewater by the activated sludge process is an efficient method at stabilizing suspended solids, removing soluble organics and nutrients but is associated with excess sludge production. This sludge is undesirable for three main reasons: 1-biological instability due to its high content on biodegradable material that will undergo decomposition once aeration is stopped, 2-its poor hygienic quality due the presence of viruses, bacteria and other pathogenic microorganisms (protozoa, helminth eggs, amoebae), 3-its low concentration in solids (containing more than 99% of water) requiring dewatering prior to valorisation or disposal (Metcalf & Eddy et al., 2003; van Haandel and Lubbe, 2007).

The treatment and disposal of excess sludge are still challenging tasks in wastewater treatment plants (WWTPs) since current practises represent up to 60% of their operating costs (Canales et al., 1994; Low and Chase, 1999; Wei et al., 2003). Reducing sludge production in WWTPs thus presents an obvious economic interest.

The activated sludge volatile suspended solids (VSS) matrix is composed of three main organic components: active biomass (heterotrophic X_H , and autotrophic X_{ANO}), endogenous residue X_E and influent unbiodegradable material $X_{U,Inf}$ (Dold, 2007). Many studies performed with

synthetic and real activated sludges have pointed out that the VSS matrix accounts for a significant percentage of extracellular polymeric substances (EPS) (Laspidou and Rittmann, 2002; Raszka et al., 2006; Rittmann and McCarty, 2001). These organics are mostly of biological origin being produced during the growth and decay of active biomass (Laspidou and Rittmann, 2002) or originating from the influent (natural organic matter such as humic and fulvic acids) and adsorbed onto bacterial flocs in the mixed liquor (Jiang, 2007).

Knowing the activated sludge composition helps to understand and predict its digestibility under aerobic or anaerobic conditions (Araujo et al., 1998; Jones et al., 2007, 2008; Jones et al., 2009). The composition of the biological fractions X_H and X_E of activated sludge was investigated by Ramdani et al. (article submitted). In this study, the authors used a synthetic sludge to determine the extracellular polymeric substances (EPS) content of these components. Results from this study indicated that a significant amount of bound EPS are associated to both X_H (26 to 40%) and X_E (10 to 17 %), (depending on the extraction method). Based on these results, it was hypothesised that the hydrolysis of the VSS organics is affected by the hydrolysis of the VSS matrix partly constituted of EPS (the *glue*). The extracellular polymeric substances content of activated sludge was considered in the unified theory (Laspidou and Rittmann, 2002) that considered that the decay rate of EPS (hydrolysis) is lower than that of the active biomass X_H .

The effect of the mode of sludge digestion was recently studied using synthetic (Ramdani et al., 2010) or real activated sludge (Park et al., 2006). It was shown that the performance of digestion was dependent on the mode of digestion (aerobic, anaerobic or intermittent fermentation conditions). In the first reference, the authors reported higher VSS removals of 77 % and 84 % in batch tests operated at 35°C under anaerobic and intermittent fermentation conditions, respectively. In the second reference, the authors reported that each digestion process (aerobic/anaerobic) was associated with a distinct biopolymer fraction (proteins/polysaccharides) which resulted in different VSS removals. This study showed that combining aerobic and anaerobic digestions resulted in additional VSS removal (13 to 18 %) suggesting that some of the VSS organics are preferably digested under either aerobic or anaerobic conditions.

In our previous work (Ramdani et al., 2010), the biodegradation of the endogenous residue was studied in batch tests under either anaerobic or intermittent fermentation conditions. The specific objectives of this work were:

- To determine the rate of biodegradations of the endogenous residue in daily fed digesters operated at complete retention of solids under either aerobic or intermittent fermentation conditions;
- To determine the fate and nature of the digestion filtered products under either aerobic or intermittent fermentation conditions;
- To determine the effect of temperature on the decay rate of the endogenous residue in batch tests performed under intermittent fermentation conditions.

7.2 Material and Methods

7.2.1 Experimental setup

Activated sludge was generated in a 200 L aerobic membrane bioreactor operated at 10.4 days sludge retention time (SRT) and 11.7 hours hydraulic retention time (HRT). This system received a synthetic and completely biodegradable influent with sodium acetate as a sole carbon source. This influent had the following characteristics: flow of 445 L/day, COD of 363 mg/L, TKN of 26.6 mg N/L and Pt of 6.35 mg P/L. A complete description of this MBR is provided in Ramdani et al. (2010).

To assess the biodegradability of the endogenous residue, waste activated sludge (concentration of $1387 \text{ mg VSS/L} \pm 22$) from this MBR (20 L/d) essentially composed of 59.5% of heterotrophic biomass (X_H) and 40.5 % of endogenous residue (X_E) (Ramdani et al., Submitted) was fed to a 130 L membrane digestion unit (MDU) using similar Zenon hollow fiber membrane module (ZW10, pore size of 0.04 mm) as the MBR system and was operated at complete solid retention. An equivalent flow rate (20 L.d^{-1}) of water was filtered from the MDU to keep its volume constant. The MBR-MDU system was operated under two different conditions: MDU fully aerobic (run 1) and MDU under intermittent fermentation (run 2) as presented in Figure 7.1. In each run, the system MBR-MDU was operated for a period of 90 days. When the MDU was under intermittent fermentation, the ORP was monitored and the daily period of aeration was maintained for 1.0 to 2.0 h to increase the ORP from about -380 mV (measured against an Ag/AgCl, KCl 1M reference) to values in the range of -100 to -50 mV. The calibration of the ORP probe was frequently checked to ensure maximum precision. The dissolved oxygen concentration reached $0.4 \text{ mg O}_2/\text{L} \pm 0.1$ at the end of the aerated period. The pH value was kept

in the range of 7.0 to 7.3 using sodium bicarbonate (NaHCO_3) in runs 1 and 2. Filtration of water (20 L/d) from the MDU in run 2 was performed during the aeration period to prevent the membrane module from biofouling. No chemical cleaning was performed during both of runs 1 and 2 since the transmembrane pressure was less than 50 kPa (as recommended by the manufacturer) but it was performed once run 1 was completed.

The MDU was characterized on a weekly basis for total and soluble COD, total and volatile suspended solids (TSS, VSS), polysaccharides and proteins in runs 1 and 2. Filtered COD in the MDU was performed using 1.2 and 0.45 μm filters and was compared to the MDU effluent (0.04 μm , membrane module pore size) to assess the evolution of colloidal material over time. In run 2, volatile fatty acids VFAs (acetic, propionic and butyric acids) were analysed before and after the aeration period.

To assess the evolution and the composition of the MDU filtered material (filtered with 1.2 and 0.45 μm filters and 0.04 μm membrane module (effluent)) over 24 hours (1 cycle of operation), the MDU was sampled and characterized at regular intervals of 2 hours for filtered COD, proteins, and polysaccharides in runs 1 and 2 and also for VFAs in run 2.

To assess the evolution of the biodegradable material contained in the MDU sludge supernatant (filtered using 1.2 μm filter), a 500 mL sample of this supernatant of the MDU sludge was centrifuged on day 80 of run 2. To this volume of supernatant, a solids fraction obtained by centrifugation of 25 mL of the 10.4 day SRT MBR mixed liquor was added and resuspended in a 500 mL Erlenmeyer. The resulting sludge was aerated and its pH kept in the range 7.0-7.2. This batch test was stopped when the filtered COD reached a constant value (after about 2 days).

At the end of the MDU-tests (runs 1 and 2), the active fraction of the MDU sludge was determined according to Ramdani et al. (2010) using the OUR-based method. In this method, 2 L of the MDU sludge were subjected to aerobic digestion in a 21 day batch test and the oxygen uptake rate response was monitored. The endogenous decay rate of sludge b_H and the active fraction F_A were determined using non linear regression to fit observed and predicted values of OUR versus time. The determination of the active fraction was used to estimate the percentage of the endogenous fraction accumulating in the MDU at the end of the experiment (day 80).

In parallel to the MBR-MDU experiments (runs 1 and 2), two batch experiments were performed to determine the effect of temperature on the decay rate of the endogenous residue under

intermittent fermentation conditions according to the experimental setup described in our previous work (Ramdani et al., 2010). These two batch tests were started up using 2 L of thickened sludge from the 10.4 day SRT MBR system ($2775 \text{ mgVSS.L}^{-1}$) and were operated for a total duration of 150 d at temperatures of 20 and 30°C. In these experiments, only TSS, VSS, total and filtered COD were monitored.

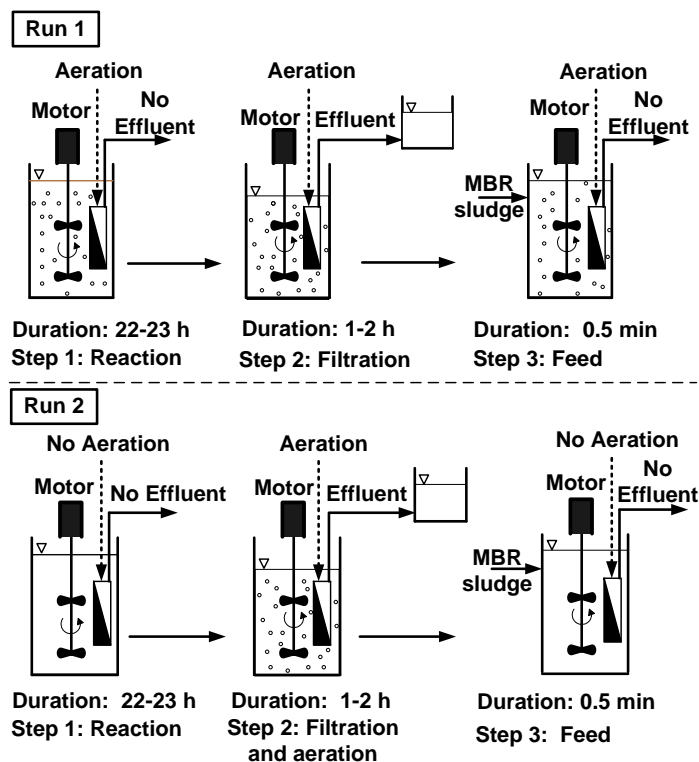


Figure 7.1 - The 24 hour MDU operating cycle in run 1 (aerobic) and run 2 (intermittent fermentation)

7.2.2 Analytical methods

Most of the analyses were performed according to the Standard Methods (APHA et al., 2005). For the MBR system characterization, nitrogen and phosphorus species were analyzed by a Flow Injection Analyzer Lachat Quick Chem methods: (TKN: 10-107-06-2D; NH_3 : 10-107-06-1K; NO_2 and NO_3 : 10-107-04-1O; total P: 10-115-01-1C; o- PO_4 : 10-115-01-1A). Two models of this apparatus were used: Quick Chem AE for TKN and total P and Quick Chem 8500 for NH_3 , NO_3 and NO_2 and o- PO_4 . COD measurements were performed using Hach tubes and a DR 2800 spectrophotometer. MDU effluent samples analyzed for volatile fatty acids were acidified as

follows: 10 μL of 6 N H_3PO_4 was added to 1.5 mL of sample in a 2 mL chromatographic vial. These vials were refrigerated at 4°C before analysis to prevent any bacterial activity. Volatile fatty acids were analyzed using a Varian CP-3380 gas chromatograph provided with a CP-8200 Autosampler and a Flame Ionization Detector (at 300°C). A selective capillary column (Wall Coated Open Tubular Fused Silica, 25 m, 0.32 mm ID, Chemically-Bonded Free Fatty Acid Phase (FFAP-CB)) for free fatty acids was used to separate acetic, propionic and butyric acids. Oven temperature program was the following: 100°C maintained for 2 min, increased from 100°C to 200°C at regular steps of $20^\circ\text{C}/\text{min}$, and then maintained at 200°C for a total duration of 20 min.

Polysaccharides were analyzed using a colorimetric method (Dubois et al., 1956). 1 mL of sample was added to 1 mL of 5% (W/V) phenol solution. After a homogenisation using a laboratory vortex device, 5 mL of concentrated sulphuric acid (H_2SO_4) were added and resulting samples were incubated at 100°C for 5 minutes using a heater block. Proteins were analyzed according to the method of (Smith et al., 1985). A Pierce[®] BCA protein assay kit was used (0.1 mL of sample was added to 2 mL of BCA working reagent, samples were then incubated at 60°C for 30 minutes using a heater block). Standards curve was developed with bovine serum albumin (BSA). Absorbance measurements were performed at 562 nm using a DR 2800 spectrophotometer. These measurements were made within 10 minutes (max.) after the incubation period since the BCA assay does not reach a true end point and the color continues to develop (as it is pointed out in the Pierce[®] BCA assay kit and was experimentally observed).

7.2.3 Simulations

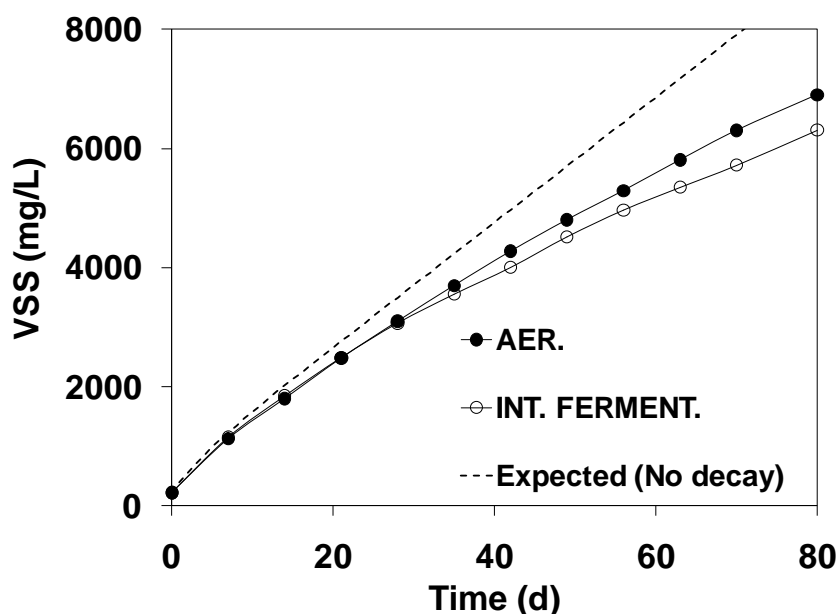
All simulations presented in this paper were performed using the software BioWin 3[®] (EnviroSim, 2010).

7.3 Results and discussion

7.3.1 VSS removal, % X_E degraded

In this investigation, the MDU was operated at complete solids retention and at an HRT of 6.5 days. The membrane allowed to decouple the SRT from the HRT and to subject the sludge organics to dynamic SRT conditions under either fully aerobic (run 1) or intermittent

fermentation conditions (run 2). The continuous increase of the SRT in the MDU under both conditions enhanced the digestibility of the activated sludge organics including the endogenous residue since the profile of solids (VSS) over the digestion time in this unit was shown to curve (Figure 7.2) instead of linearly accumulating. The extent of degradation of the VSS matrix appeared to depend on the mode of digestion and more VSS removal was obtained under intermittent fermentation conditions (Fig. 7.2, Tab. 7.1). This result is in agreement with the findings of Park et al. (2006) who reported that sequential anaerobic and aerobic digestions improved the digestibility of activated sludge compared to single aerobic or anaerobic digestions. Similar results were reported by Ramdani et al. (2010) who obtained more degradation of VSS in batch tests under intermittent fermentation conditions compared to anaerobic ones.



Expected (no decay) refers to expected profile of VSS if no degradation of X_E was considered

Figure 7.2 - Profiles of VSS in the MDU under fully aerobic (AER.) and intermittent fermentation (INT. FERMENT.) conditions

In our experiment, the MDU was operated for 80 days and received a cumulative mass of $2219 \text{ g VSS} \pm 21$. VSS removals were 59.6 and 62.9 % in runs 1 and 2, respectively. If no decay of the endogenous residue had been considered in the MDU, a lower percentage of VSS removals would have been anticipated. Considering that only the heterotrophic biomass X_H was degraded, a fraction of 20 % of the X_H fed to the MDU would have accumulated as an additional endogenous residue X_E ($f = 0.20$, endogenous fraction (Dold, 2007), validated in Ramdani et al.

submitted). This means that a percentage of $40.5\% + 0.20 * 59.5\% = 52.4\%$ would accumulate as X_E in the MDU and would correspond to the VSS residual at the end of the experiment (day 80). The VSS removal with these theoretical calculations would have been only 47.6%. This value is lower than the VSS removal determined above in runs 1 and 2 confirming that the endogenous residue was degraded under both fully aerobic and intermittent fermentation conditions. Considering the proportion of X_H and X_E in the VSS remaining in the MDU at the end of the experiment (day 80), the amount of X_E degraded was evaluated to be 17.1 and 20.2 % in run 1 and run 2 respectively. Details of these calculations are summarized in Table 7.1.

Table 7.1 - Evaluation of the percentage of X_E degraded in the MDU in runs 1 and 2

Parameter	Unit	AEROBIC (run 1)	INTERMIT. FERMENT. (run 2)
Cumulative mass of VSS fed to the MDU	(g)	2219	2219
mass of VSS @ day 80	(g)	898	825
Residual VSS @ day 80	(%)	40.5	37.2
Active fraction@ day 80	(%)	12.9	13.5
Endogenous fraction @ day 80	(%)	87.1	86.5
Residual X_E @ day 80	(%)	$0.871 * 40.5 = 35.3$	$0.865 * 37.2 = 32.2$
Residual VSS if no decay of X_E	(%)	$40.5 + 0.20 * 59.5 = 52.4$	$40.5 + 0.20 * 59.5 = 52.4$
X_E degraded	(%)	$52.4\% - 35.3\% = 17.1$	$52.4 - 32.2\% = 20.2$

7.3.2 Filtered COD in the MDU

Destruction of the VSS matrix of the MBR waste activated sludge in the MDU accumulating system subjected to either fully aerobic or intermittent fermentation conditions was accompanied by a release of filterable material. The term filtered COD in this investigation refers to 3 levels of filtered organic material depending on the pore size of the filter used to recover the filtrate from the MDU sludge: “COD1.2” obtained using a $1.2\ \mu\text{m}$ filter, “COD0.45” obtained using a $0.45\ \mu\text{m}$ filter and COD0.04 obtained using the membrane module with pore size of $0.04\ \mu\text{m}$. These 3

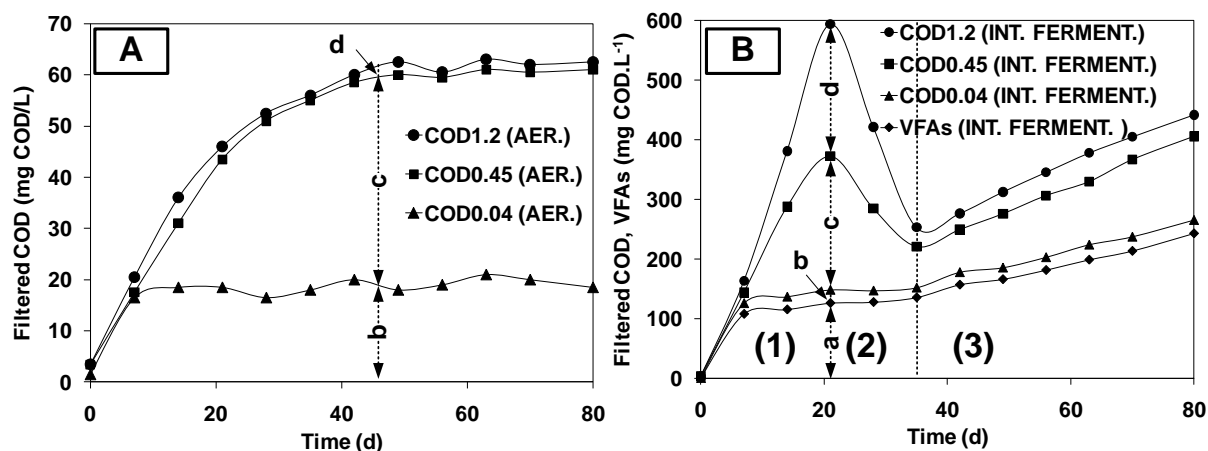
levels of filtered COD were characterized on a weekly basis over the 80 days of digestion in both runs 1 and 2 to determine the fate of colloidal material with size ranging from 0.04 to 1.2 μm .

Profiles of filtered COD in the MDU for runs 1 and 2 are presented in Figure 7.3. Under fully aerobic conditions (run 1), the MDU system reached an equilibrium after 3 to 4 weeks of operation as indicated by the plateau reached by the three filtered COD curves (COD_{1.2} of 61.8 ± 1.2 , COD_{0.45} of 60.1 ± 1.0 and COD_{0.04} of 19.4 ± 1.1 mg COD.L⁻¹). This result can be explained by the fact that the concentration of the active heterotrophic biomass X_H stopped to increase in the MDU after 3 to 4 weeks as the mass of X_H daily fed to the MDU was balanced by the mass of X_H daily decaying in the system (chapter 6, Appendix). Furthermore, the biodegradable fraction of filtered COD was instantaneously and completely consumed under the MDU aerobic environment. The remaining fCOD was constituted of non biodegradable material either retained in the MDU (size greater than 0.04 μm) or leaving the system in the effluent filtrate (size less than 0.04 μm). The biochemical nature of this non biodegradable material is described in section 7.2.3. It should also be indicated that no difference was observed between values of COD_{1.2} and COD_{0.45} under aerobic conditions suggesting that all of released colloidal material with size ranging between 0.45 to 1.2 μm was biodegradable and biodegraded aerobically.

Under intermittent fermentation conditions, a different behaviour was observed regarding filtered COD profiles. This behaviour can be described in three steps as indicated in Figure 7.3:

- In step (1) lasting from day 0 to day 21, volatile fatty acids (VFAs) and colloidal material were built up in the MDU. During this first period, the biomass was adapting its metabolism to the intermittent fermentation conditions and more extracellular polymeric substances (EPS) were released to the MDU sludge supernatant. At the end of this period, values of fCOD were: COD_{1.2} of 594, COD_{0.45} of 373 and COD_{0.04} of 148 mg COD/L and the concentration of VFAs was 126 mg COD/L. The accumulation of VFAs was shown to occur at an average rate of 1.3 mg COD.L⁻¹.d⁻¹. During this first step, colloidal material with size ranging between 0.45 to 1.2 μm was particularly built up;
- In step (2), lasting from day 21 to day 35, both COD 1.2 and COD 0.45 decreased in the MDU sludge supernatant and colloidal material with size ranging between 0.45 to 1.2 μm was consumed to a great extent and reached its lower level at day 35 (32 mg COD/L as

- difference between COD_{1.2} and COD_{0.45}). The accumulation of VFAs was maintained but at a relatively lower rate (average) of $0.67 \text{ mg COD.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ compared the step (1);
- In step (3), lasting from day 35 to the end of the experiment, both of COD_{1.2} and COD_{0.45} increased indicating that more filtered material was released probably due to the degradation of the endogenous residue. The amount of colloidal material with size ranging between 0.45 to $1.2 \mu\text{m}$ reached a constant level of about $36 \text{ mg COD/L} \pm 6$. The rate of accumulation of VFAs notably increased to reach a mean value of $2.4 \text{ mg COD.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ over this period. This increase in VFAs accumulated indicated that the fermentation process was enhanced during the reaction period in the MDU (22 to 23 hours without aeration) which can be attributed to the degradation of the endogenous residue and the fermentation of the released colloidal material (slowly biodegradable). In fact, under dynamic SRT conditions in the MDU, the sludge retention time is continuously increasing suggesting that more solids are broken down, more VFAs are generated and more slowly biodegradable material is fermented.



Note: $a = \text{VFAs}$; $b = S_E$; $c = C1B + C2E$; $d = C2B + C2E$; S_E : soluble endogenous COD; $C1B$: colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.04 to $0.45 \mu\text{m}$; $C1E$: colloidal endogenous COD with size ranging from 0.04 to $0.45 \mu\text{m}$; $C2B$: colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.45 to $1.2 \mu\text{m}$; $C2E$: colloidal endogenous COD with size ranging from 0.45 to $1.2 \mu\text{m}$.

Figure 7.3 - Profiles of filtered COD and VFAs in the MDU under fully aerobic (AER., A) and intermittent fermentation (INT. FERMENT., B) conditions

At the end of the intermittent fermentation experiment (day 80), the biodegradability of the released filtered material was assessed in a batch aerobic growth test by adding a small amount of the 10.4 day SRT MBR sludge (≈ 35 mg of VSS) to 500 mL of the MDU supernatant (filtered after centrifugation using a $1.2 \mu\text{m}$ filter) of 451 mg COD/L as described in section 7.2.1. The evolution of COD_{1.2} is presented in Figure 7.4. After a lag period of about 8 h, the filtered material was degraded to reach at the end 85 and 75 mg COD/L after 30 h and 48 h, respectively. At the end of the experiment, no difference between COD_{1.2} and COD_{0.45} was observed (75 vs 73 mg COD/L). The residual filtered COD (75 mg COD/L) constitutes the ultimate non biodegradable filtered COD accumulated during the 80 days of operation of the MDU under intermittent fermentation conditions which means that less than 1 mg COD/L of soluble microbial products was accumulating per day. Under fully aerobic conditions, a slightly lower value of filtered COD (62 mg COD/L) was observed at day 80 in the MDU suggesting similar conclusions.

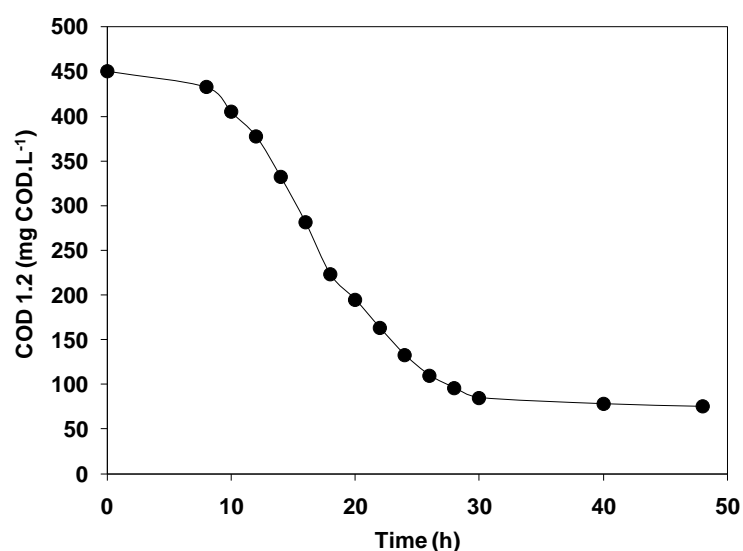


Figure 7.4 - Evolution of COD_{1.2} during the batch aerobic growth test using the MDU filtered material at day 80 (run 2)

7.3.3 Proteins, polysaccharides in the MDU

The nature of filtered COD (COD_{1.2}, COD_{0.45} and COD_{0.04}) was characterised in both runs 1 and 2 in terms of proteins and polysaccharides. These organic compounds were expressed in

COD units by considering conversion factors of 1.5 g COD/g protein and 1.07 g COD/g polysaccharide. These conversion factors were suggested in (Jiang et al., 2008) and were experimentally confirmed on bovine serum albumin (BSA) and glucose respectively in this study.

Under intermittent fermentation conditions, a fraction of filtered COD was shown to be VFAs and was mainly constituted of acetate (more than 90 %) and propionate. Theoretical ratios of 1.07 g COD/ g acetate and 1.51 g COD/g propionate were used in this study to evaluate VFAs in COD units (butyric acid was less than 0.2 mg/L). The remaining fraction of filtered COD (non-VFAs) was characterised in terms of proteins and polysaccharides.

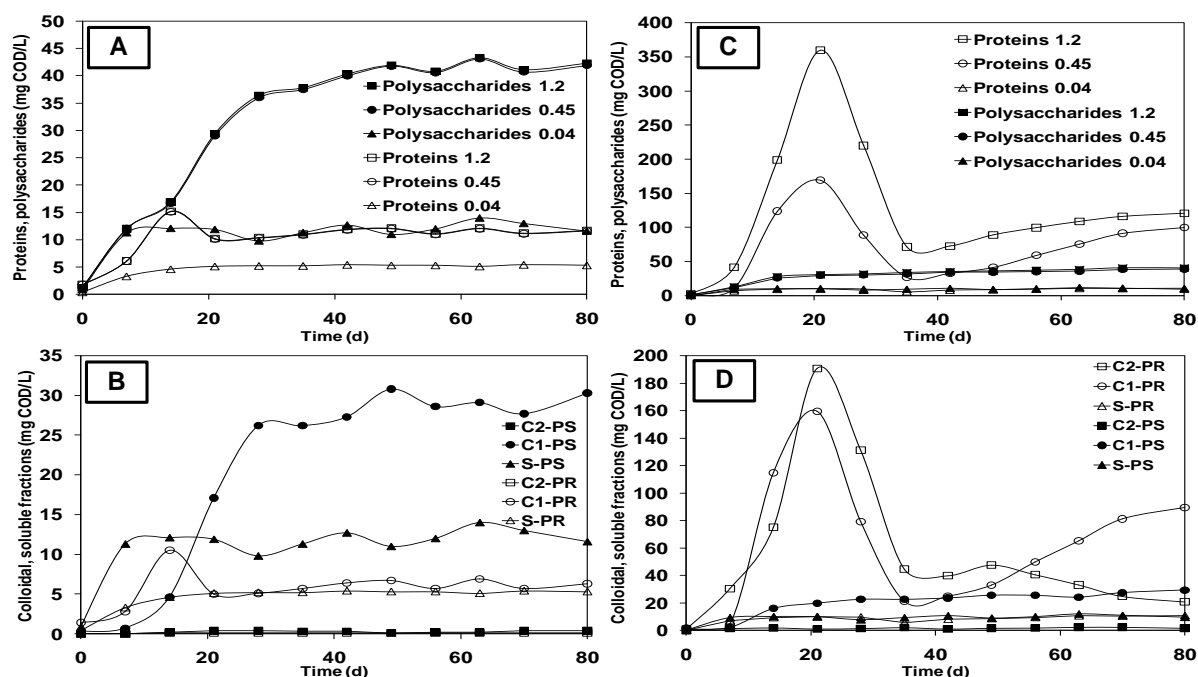
Profiles of proteins and polysaccharides related to COD_{1.2}, COD_{0.45} and COD_{0.04} over the 80 days of operation in the MDU are presented in Figure 7.5 for runs 1 and 2, respectively. These profiles showed the same behaviours compared to filtered COD since proteins and polysaccharides were the main components of the accumulated filtered COD under aerobic conditions (86 to 90% of COD_{1.2}) and of the non-VFA accumulated filtered COD under intermittent fermentation conditions (87 to 94 % of COD_{1.2}).

Under both testing conditions (run 1 and run 2), Figure 7.5 confirms that the MDU system reached an equilibrium since production of proteins and polysaccharides became constant as demonstrated by the saturation-shaped curves. The equilibrium is attained after about 40 days and 60 days of operation in run 1 and run 2 respectively. This delay in run 2 can be explained by dynamic conditions applied in run 2 due to the intermittent exposure of the biomass to oxygen accompanied by the release of extracellular polymeric substances to the sludge supernatant. These substances were consumed later over the test duration.

Under aerobic conditions, polysaccharides were more important than proteins and the observed ratio (polysaccharides to proteins) during the equilibrium period was 3.56 ± 0.12 . Under intermittent fermentation conditions, proteins were more predominant and the value of this ratio was 0.34 ± 0.01 . This result is in agreement with the findings of (Novak et al., 2003) who reported that more polysaccharides are released under aerobic conditions and more proteins are released under anaerobic conditions.

As for the size of the biopolymers retained in the MDU during the equilibrium period in run 1, no significant difference between proteins characterized in the 1.2 and 0.45 μm filtrates were found but a slight difference (about 6 mg COD/L) was noted when compared to the MDU effluent (0.04

μm filtrate). Regarding polysaccharides, similar conclusions were made but a significant difference (30 mg COD/L) between the MDU sludge supernatant (1.2 and 0.45 μm filtrates) and the MDU effluent was observed. In run 2, the same behaviour was observed with regard to polysaccharides. As for proteins, dynamic responses were observed in the 1.2 and 0.45 μm filtrates with a maximum peak around 3 weeks followed by a sudden decrease between days 21 and 35. After day 35, the generation of proteins in the MDU supernatant (from both 1.2 and 0.45 μm filtrates) increased again and seemed to converge to a stable level at the end of the operation period (after day 63). The portion of proteins with size between 0.45 and 1.2 μm was very important during the first 21 days, decreased between days 21 and 35, became stable between days 35 and 63 and decreased again when the equilibrium conditions were reached. The effluent proteins were not affected by dynamic conditions in the MDU and reached a constant value of 9.8 mg COD/L \pm 0.9 for the whole period of operation.



Note: C2-PR and C2-PS refer to colloidal fractions of proteins and polysaccharides with size ranging from 0.45 to 1.2 μm ; C1-PR and C1-PS refer to colloidal fractions of proteins and polysaccharides with size ranging from 0.04 to 0.45 μm and S-PR and S-PS refer to soluble proteins and polysaccharides with size less than 0.04 μm

Figure 7.5 - Profiles of proteins and polysaccharides in the MDU sludge supernatant and effluent in run 1 (A) and run 2 (C) with their colloidal and soluble fractions (run 1, B; run 2, D)

7.3.4 COD fractionation of the MDU sludge

A summary of the COD fractionation of the MDU sludge at day 80 for runs 1 and 2 is presented in Table 7.2. The MDU sludge was first fractionated based on the physical nature and size of its compounds: particulate (X) with size greater than 1.2 μm , colloidal (C2) with size ranging from 0.45 to 1.2 μm , colloidal (C1) with size ranging from 0.04 to 0.45 μm and soluble (S) with size less than 0.04 μm . These colloidal and soluble compounds were then subdivided based on their biochemical composition: proteins (C2-PR, C1-PR, and S-PR), polysaccharides (C2-PS, C1-PS and S-PS), volatile fatty acids (S-VFA) and unknowns (C2-UNK, C1-UNK and S-UNK). The biodegradability of the resulting fractions was presented in terms of biodegradable (B), recalcitrant (R) or partly biodegradable (PB). The biodegradability of the colloidal fractions was determined in run 2 (intermittent fermentation conditions) based on the results obtained in section 7.3.2 (test assessing the biodegradability of filtered material).

Table 7.2 - COD fractionation of the MDU sludge in runs 1 and 2 at day 80

	Filtration size (μm)	Physical nature	Concentration (mg COD/L)	Fraction	Concentration (mg COD/L)	Biodegradability			Endogenous recalcitrant				
						B	R	PB					
Fully aerobic conditions	> 1.2	X	10148	X _H	1309	√							%E/(PR + PS+UNK (**))
				X _E	8839	√							
	> 0.45 and < 1.2	C2	1.5	C2-PR	0.2	√			62.5 (*)	1.5	1.5	C2E	100
				C2-PS	0.4	√							
				C2-UNK	0.9	√							
	> 0.04 and < 0.45	C1	42.5	C1-PR	6.3		√			42.5	C1E	100	
				C1-PS	30.3		√						
				C1-UNK	5.9		√						
	< 0.04	S	18.5	S-VFA	0.0	√			61	18.5	S _E	100	
				S-PR	5.3		√						
				S-PS	11.6		√						
				S-UNK	1.6		√						
Intermittent fermentation conditions	> 1.2	X	9323	X _H	1203	√							%E/(PR + PS+UNK (**))
				X _E	8120	√							
	> 0.45 and < 1.2	C2	36.0	C2-PR	20.7	√			75 (*)	2	2	C2E	5.6
				C2-PS	1.5	√							
				C2-UNK	13.8	√							
	> 0.04 and < 0.45	C1	140.9	C1-PR	89.4			√		50.8	C1E	36.1	
				C1-PS	29.3		√						
				C1-UNK	22.2			√					
	< 0.04	S	265.1	S-VFA	242.9	√			73	22.2	S _E	100.0	
				S-PR	10.6		√						
				S-PS	9.5		√						
				S-UNK	2.1		√						

(*): C2 + C1 + S; (**): % of endogenous recalcitrant products

7.3.5 Filtered COD over the MDU-24 hour-operating cycle

To characterize the daily dynamic behaviour of the accumulation of filtered organic products in the MDU, the COD of filtered samples from the MDU supernatant and effluent (COD1.2, COD0.45 and COD0.04) was monitored over 24 hours at 2 hours intervals starting from the MBR sludge fed to the MDU. Such profiles were performed at the end of the experiment in both runs 1 and 2 (during the equilibrium conditions). Results of the evolution of filtered COD and VFA (in run 2) are presented in Figure 7.6. Under aerobic conditions, no significant evolution of the three levels of filtered COD was observed since the filtered products were consumed as they were generated. The constant value of these filtered products confirmed also that equilibrium conditions had been reached. In the case of intermittent fermentation conditions, filtered COD components including VFA linearly increased to reach their maximum at the end of the reaction step (non aerated period of 22 to 23 hours, Fig. 7.1). This increase in filtered COD was mainly due to the generation of VFAs. After the aeration-filtration step, all COD components decreased to reach approximately their initial values (at time 0, Fig. 7.6).

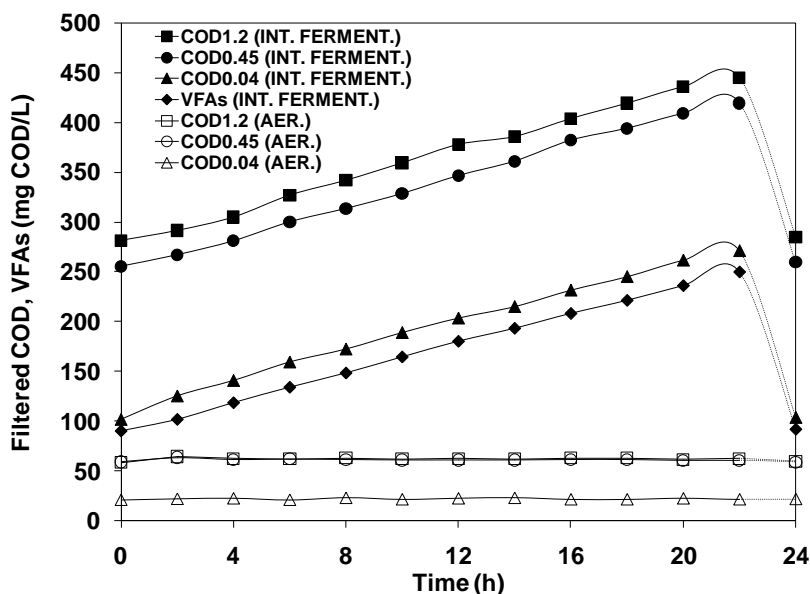


Figure 7.6 - Profiles of filtered COD and VFAs in the MDU over 24 hour-operating cycle in run 1 (AER.) and run 2 (INT. FERMENT.)

7.3.6 Decay rate of X_E in the MDU

The system MBR-MDU operated in this study was simulated using BioWin[®] 3 for both runs 1 and 2 to confirm the biodegradation of the endogenous residue and to determine the decay rate constant associated with this microbial process. It was considered that the endogenous residue (X_E) was transformed into a slowly biodegradable substrate X_B and then to soluble readily biodegradable substrate S_B (model D, Figure 6.7, chapter 6). The sludge production (concentration of VSS) in the 10.4 day-SRT MBR was first simulated. The most important biokinetic parameters affecting sludge production using acetate as a sole carbon source were determined in Ramdani et al. (submitted). These parameters are: the heterotrophic yield Y_H , the heterotrophic biomass decay rate b_H and the fraction accumulating as endogenous residue f . Conversion factors COD/VSS of the heterotrophic biomass X_H and the endogenous residue X_E were also determined in Ramdani et al. (submitted) and were used in our simulations in this study. Values of the biokinetic and stoichiometric parameters are summarised in Table 7.3.

Table 7.3 - Biokinetic and stoichiometric parameters

Parameter	Value	Unit	Reference
Heterotrophic yield: Y_H	0.666	g COD/g COD	BioWin (default value, EnviroSim, 2010)
Heterotrophic acetate yield: $Y_{H,ac}$	0.567	g COD/g COD	Ramdani et al. (submitted)
Endogenous decay rate: b_H	0.24	d^{-1}	Ramdani et al. (submitted)
Endogenous fraction: f	0.20	-	Ramdani et al. (submitted)
COD:VSS (X_H)	1.422	g COD/g VSS	Ramdani et al. (submitted)
COD:VSS (X_E)	1.475	g COD/g VSS	Ramdani et al. (submitted)

Simulations of the MBR-MDU system in runs 1 and 2 were performed with and without considering the endogenous residue decay process (Figure 7.7). If no decay of X_E was considered, the simulated VSS deviated considerably from the observed values under both conditions tested (runs 1 and 2). By considering the degradation of X_E as a first-order rate in the MDU tests, good fits between observed and simulated values of VSS were obtained. Decay rate constants b_E of 0.0065 and 0.0072 d^{-1} were determined in runs 1 and 2, respectively.

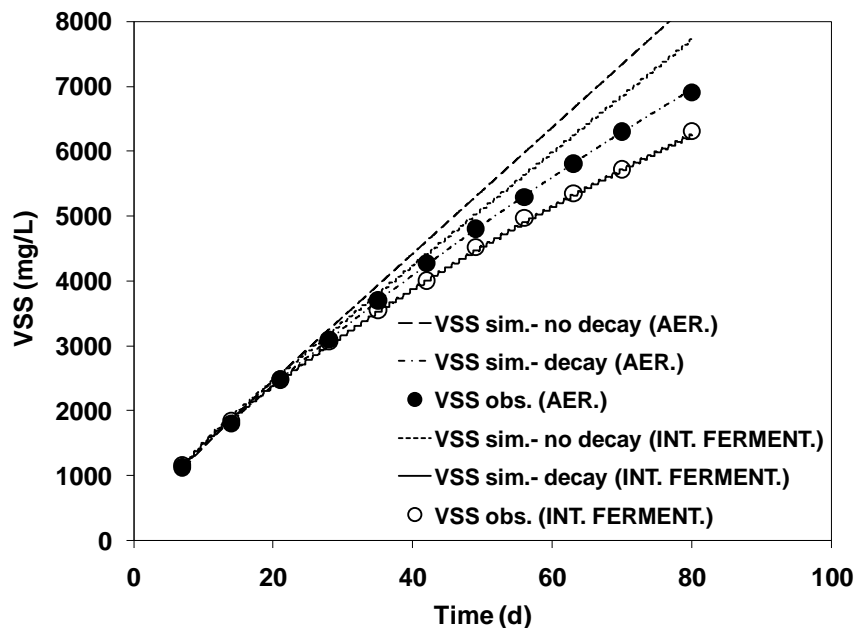


Figure 7.7 - Observed and simulated VSS in the MDU in run 1 (AER.) and run 2 (INT. FERMENT.) with and without decay of X_E

7.3.7 Effect of temperature on the decay rate of X_E

7.3.7.1 VSS and fCOD in batch tests

Two batch digestion units operated under intermittent fermentation conditions were run at 20 and 30°C to determine the effect of temperature on the decay rate of X_E (b_E). The two units were started up using thickened sludge from the 10.4 day SRT-MBR system (VSS concentration of 2775 mg VSS/L). These experiments were designed according to the experimental set-up described in Ramdani et al. (2010) but the duration of these tests was extended to 150 days (instead of 90 days) to determine whether the VSS degradation (i.e. decay of X_E) would continue or reach an ultimate value.

The change in residual VSS (%) in the digestion units is presented in Figure 7.8A. This profile indicated that the degradation of VSS continues to occur in the two units at a slow decay rate. At the end of the experiments (after 150 days), about 86 and 90% of the VSS initially fed to the digestion units were removed at 20 and 30°C, respectively. This result confirms that the decay of the endogenous residue continued at both temperatures and no ultimate value of VSS was attained. In fact, if no degradation of the endogenous residue is considered, the anticipated residual of VSS at the end of the experiments would have been 40.5% (X_E initially contained in

the sludge) + 0.20×59.5 (fraction of X_E generated when X_H is fully degraded) = 52.4 %. This value is higher than 13.9 and 10.7 % observed at 20 and 30°C, respectively (Fig. 7.8A)

As for the evolution of the filtered organic material (fCOD, Fig. 7.8B), the same behaviour was observed in the two units. After a peak localised at about 3 weeks of digestion time due to the accumulation of colloidal material and generation of volatile fatty acids (VFAs), a fast decrease in filtered COD was observed between weeks 3 and 9 accompanied with a consumption of colloidal material with size between 0.45 and 1.2 μm . From day 63 to day 150, a linear slow decrease of filtered COD took place in the two units and all of the filtered material typically had a size less than 0.45 μm . At the end of the experiments, values of fCOD were about 40 and 35 mg COD/L in the units at 20 and 30°C, respectively. This result confirms that the released biopolymers are biodegradable to a great extent and that some of these organics became more bioavailable after a long time of digestion. The residual filtered COD characterised at day 150, the most recalcitrant COD, was shown to consist of 83 to 87 % of polysaccharides and 6 to 10 % of proteins in the two units. These biopolymers probably are composed of a combination of polysaccharides tightly bound to proteins.

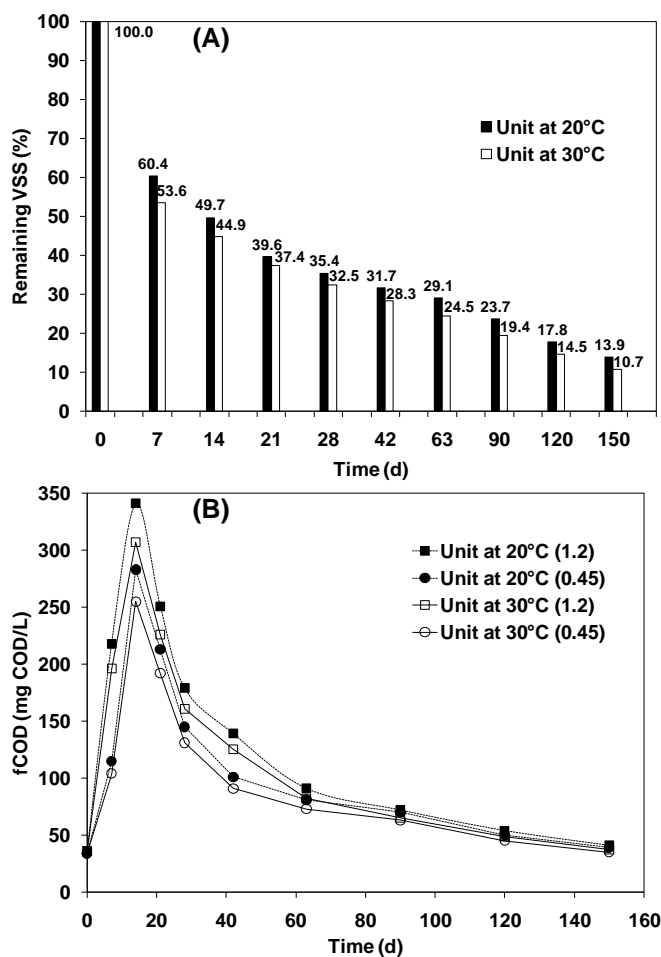


Figure 7.8 - Evolution of the residual of VSS (A) and filtered COD (B) at 20 and 30°C under intermittent fermentation conditions

7.3.7.2 Decay rate of X_E , temperature coefficient

Simulations of VSS in the two digestion units were performed following the same principles of the MDU simulations (with and without considering decay of X_E). Results of these simulations are presented in Figure 7.9. Good fits between observed and simulated VSS were obtained by considering decay rates b_E of 0.0075 and 0.0104 d^{-1} at 20 and 30°C, respectively. Using the same experimental set-up, a decay rate constant of 0.0120 d^{-1} was determined at 35°C in Ramdani et al. (2010). By combining these 3 results obtained at 20, 30 and 35°C, the effect of temperature on the decay rate of the endogenous residue under intermittent fermentation conditions was evaluated and a temperature correction factor θ was determined (Table 7.3).

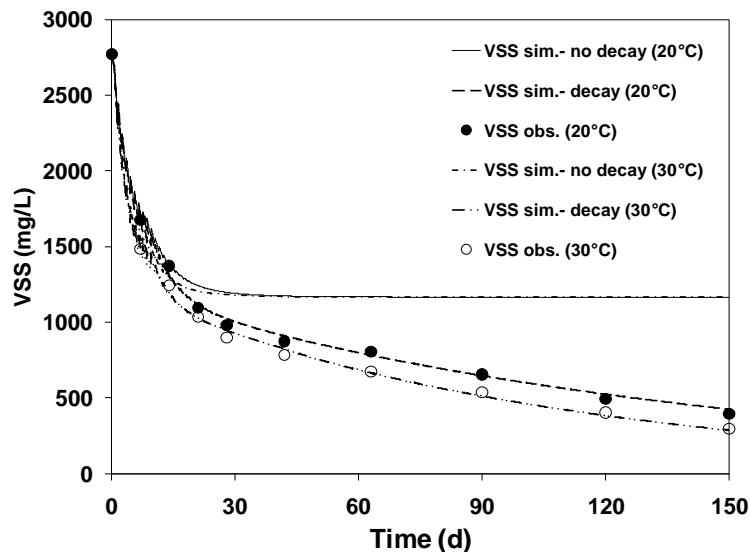


Figure 7.9 - Simulation of VSS with and without X_E decay at 20 and 30°C under intermittent fermentation conditions

From the data in Table 7.4, two values of temperature coefficient (θ) were determined based on the Van't Hoff-Arrhenius law for temperature correction: one using values of b_E at 20 and 30°C and one using values of b_E at 20 and 35°C. The obtained temperature coefficients were 1.0332 and 1.0318 in the first and second case, respectively. Considering the average value of these two coefficients, the following expression describing the effect of temperature on the decay rate of X_E under intermittent fermentation conditions was suggested:

$$b_E(T) = 0.0075 \cdot \theta^{(T-20)} \text{ (d}^{-1}\text{) for } 20^\circ\text{C} \leq T \leq 35^\circ\text{C}; \theta = 1.0325 \quad (7.1)$$

Table 7.4 - Summary of decay rates of X_E at different temperatures under intermittent fermentation conditions

Temperature	b_E	Temperature coefficient θ	Reference
°C	d ⁻¹	-	
20	0.0075	-	This study
30	0.0104	1.0332	This study
35	0.0120	1.0318	Ramdani et al. (2010)
	Mean	1.0325	
	std	0.0010	

The determination of the endogenous decay rate under intermittent fermentation conditions using data from the accumulating MDU system and the batch digestion units, both performed at 20°C, were shown to yield similar values of b_E : 0.0072 and 0.0075 d^{-1} , respectively indicating a good agreement between the experimental methods used to evaluate this parameter.

7.3.8 General discussion

7.3.8.1 MDU, dynamic SRT, aeration

The MDU system operated under either fully aerobic or intermittent fermentation conditions was used in this study to assess the effect of long SRT on the biodegradation of the endogenous residue. By using a membrane digester, it was possible to decouple the hydraulic retention time from the solids retention time and, thus, to dynamically increase the SRT and to handle high concentrations of solids since no wastage was applied in the MDU except a negligible volume of about 80 mL per week for analyses. In such a system, the hydrolysis of the VSS matrix was maximised since 75 % of cumulative solids fed to the MDU were retained for at least 20 days (between 20 and 60 days). The hydrolysis process is considered to be the first and rate-limiting step of any type of digestion, particularly under non aerated conditions (Eastman and Ferguson, 1981; van Haandel and Lubbe, 2007). In such an environment, the hydrolytic and acidogenic fermentative bacteria are recognised to be present but normally absent under aerobic conditions. The use of the membrane module to separate solids in the MDU offered the advantage to prevent any washout and to concentrate to a great extent these hydrolytic and acidogenic bacteria which explains the high rate of solids destruction and filtered material accumulating in this unit. This is in agreement with the findings of some authors who reported that the anaerobic activity was significantly increased by settling and recycling the anaerobically digested sludge to their digesters (Ouyang and Chang, 1991; Ouyang and Lin, 1992).

The intermittent aeration was used in this investigation (run 2) to stress and inhibit the methanogenic biomass mainly constituted of strict anaerobes which are very sensitive to the presence of oxygen (van Haandel and Lubbe, 2007). The continuous accumulation of VFAs in the MDU suggests that the methanogenic activity was reduced to a great extent in our investigation and that the MDU was essentially run under acidogenesis conditions for the whole period of operation (Fig. 7.3).

Under both conditions tested, the MDU accumulating system was shown to reach an equilibrium point (after about 4 weeks of operation) from which the concentration of the active biomass in the system became constant and the mass of active biomass X_H fed to the system is balanced by its mass decayed (*i.e.* $\frac{dX_H}{dt} = 0$). After this point, the dominant microbial processes in the MDU were the generation and decay of the endogenous residue (*i.e.* $\frac{dVSS}{dt} = \frac{dX_H}{dt} + \frac{dX_E}{dt} \cong \frac{dX_E}{dt}$). Details on development of these mathematical equations under fully aerobic conditions are presented in chapter 6 (Appendix).

7.3.8.2 Decay rate of X_E

The MDU accumulating system and the batch digestion tests confirmed that the endogenous residue underwent an apparent slow biodegradation under either fully aerobic or intermittent fermentation conditions. This slow degradation of X_E was not perceived in earlier experimental studies dealing with digestion of activated sludge (aerobic or anaerobic) operated at conventional SRTs (10 to 30 days) since most of these works were focused only at designing and optimizing the efficiency of digestion processes (Metcalf and Eddy et al., 2003, van Haandel and Lubbe, 2007). This efficiency was expressed in terms of VSS or total COD removal and did not consider the effect of digestion of individual particulate components of the VSS matrix (X_H , X_E and $X_{U,Inf}$). The endogenous residue was considered to be part of the inactive organic sludge (unbiodegradable) generated in activated sludge systems including the influent unbiodegradable organic material $X_{U,Inf}$ (Metcalf and Eddy et al., 2003, van Haandel and Lubbe, 2007). This aspect was transposed, for the same reason, to activated sludge models: X_E and $X_{U,Inf}$ are considered to be unbiodegradable and are incorporated in the same component X_I in activated sludge model ASM (Henze et al., 2000).

At long SRTs, the biodegradation of the endogenous residue was reported in some recent studies performed under aerobic, anaerobic and intermittent fermentation conditions (Araujo et al., 1998; Jones et al., 2007, 2008; Jones et al., 2009; Laera et al., 2005; Lubello et al., 2009; Ramdani et al., 2010). X_E and $X_{U,Inf}$ produced under fully aerobic activated sludge systems however were reported to remain unbiodegradable under anaerobic conditions in (Ekama et al., 2007). It should be noted here that all these studies dealing with the biodegradation of the endogenous residue were performed using real wastewater except for our work Ramdani et al. (2010) and the present paper where a synthetic and completely biodegradable influent was used to target on the

endogenous residue. This approach offered well controlled conditions for evaluating the proportion of the endogenous residue in activated sludge and estimating the percentage of X_E degraded when subjecting sludge to digestion processes.

This study confirmed that the extent of VSS removal depends on the mode of digestion showing more destruction of VSS under intermittent fermentation conditions. This finding is in agreement with (Novak et al.; Park et al., 2006; Ramdani et al., 2010) who reported a high VSS degradation by combining three stages of digestion (anaerobic/aerobic/anaerobic, Novak et al., In press), two stages of digestion (anaerobic/aerobic, Park et al., 2006) and by alternating aerated and non aerated conditions (Ramdani et al., 2010). This result suggests that some biopolymers constituting the VSS matrix are degraded only under either aerobic or anaerobic conditions, and that combining different digestion conditions enhances the hydrolysis of these materials and that further decay of the VSS matrix will be observed.

To our knowledge, only two studies dealing with the biodegradation of the endogenous residue using digestion processes have characterized its decay as a first-order process and proposed a decay rate constant b_E (Jones et al., 2008; Ramdani et al., 2010). In anaerobic conditions, the value of b_E of 0.0075 d^{-1} found by Jones et al. (2008) in batch tests conducted at 35°C was 1.5 times the value 0.0050 d^{-1} found by Ramdani et al. (2010). Under intermittent fermentation conditions, we have determined the decay rate b_E and assessed the effect of temperature in the range of $20\text{-}35^\circ\text{C}$ to determine a temperature correction factor as described by the following equation:

$$b_E(T) = 0.0075 \cdot \theta^{(T-20)} (\text{d}^{-1}) \text{ for } 20^\circ\text{C} \leq T \leq 35^\circ\text{C}; \theta = 1.0325 \quad (7.2)$$

Under fully aerobic conditions, a value of b_E of 0.0065 d^{-1} was determined in this study at 20°C . This value is approximately 50 % of the values of 0.012 and 0.014 d^{-1} proposed by Lubello et al. (2009) to simulate sludge production in their two MBRs treating tannery and textile wastewaters, respectively. These values appear to be quite high at 20°C and could be explained by some considerations in simulations performed by the authors:

- In their system, the same value of the heterotrophic yield Y_H was used for aerobic and anoxic conditions and the volume of their anoxic tank was about 50% of the aerobic one. Had they accounted for a lower anoxic yield they may not have needed to degrade as

much X_E and $X_{U,Inf}$ and determined a lower decay rate to characterise their lower sludge production;

- Both X_E and $X_{U,Inf}$ were considered to be biodegradable at a similar decay rate. Were both X_E and $X_{U,Inf}$ degraded in their experiment? Could only X_E have been biodegraded?

7.3.8.3 Fate of filtered organic material

Under fully aerobic conditions, the MDU system reached a constant level in terms of filtered COD after about 4 weeks of operation. The size of the filtered material was less than $0.45 \mu\text{m}$ and 67% of the filtered COD (40 mg COD/L) was retained in the MDU (pore size of $0.04 \mu\text{m}$). The biodegradable products of digestion are continuously consumed and the remaining filtered COD is constituted of recalcitrant non biodegradable material, mainly polysaccharides.

Under intermittent fermentation conditions, the accumulation of VFAs was very important at the end of the experiment, constituting up to 55% of COD_{1.2} and up to 60% of COD_{0.45}. The biodegradable material (including VFAs) contained in the MDU supernatant, as determined from the growth batch test (Fig. 7.4), was shown to constitute about 83% of filtered COD, the remaining (17% of fCOD) being unbiodegradable. Due to the accumulation of this filtered biodegradable COD, it would be more interesting to use membranes with pore size ranging from 0.45 to $1.2 \mu\text{m}$ (preferably near $1.2 \mu\text{m}$) in the MDU system instead of $0.04 \mu\text{m}$. The resulting permeate will contain high amount of biodegradable material (VFAs, colloids, etc.) and could be used for denitrification or biological phosphorus removal or simply recycled to the main aerobic activated sludge system (MBR in our case). This alternative will help removing filtered COD with size greater than $0.04 \mu\text{m}$ including recalcitrant products from the MDU, giving more flexibility to this system. Recycling filtered material to the aerobic reactor would particularly help to remove the accumulated filtered TKN (containing a high concentration of ammonia).

7.3.8.4 Impact of this study

The VSS matrix of the sludge used in this study was composed only of the truly biological components X_H and X_E . At full scale, activated sludge systems are fed with real wastewater containing unbiodegradable organic and inorganic materials ($X_{U,Inf}$ and X_{Ig}). These two

components are reported to be unbiodegradable in fully aerobic systems and accumulate in the sludge generated as a function of the SRT and their concentration in the influent (Dold, 2007; Ramdani et al., 2010).

Physical treatments by hydrocycloning and microscreening were reported to be efficient at removing some $X_{U,Inf}$ (trash) and X_{Ig} (grit) from the secondary sludge (Johnson et al., 2008). Such treatments would give more flexibility to the activated sludge system given that the mixed liquor VSS and TSS concentrations will be reduced in the aerobic reactor. The resulting wasted sludge would have an increased fraction of the truly biological components X_H and X_E and could satisfactorily be digested in an MDU system to enhance the biodegradation of the endogenous residue. Based on the performance of the MDU and the aeration cost, the intermittent fermentation conditions could be more attractive compared to fully aerobic ones.

The biological transformations of the heterotrophic biomass and the endogenous residue highlighted in this study are shown in the global scheme of Figure 7.10 developed for activated sludge systems fed real wastewater and operated at long SRTs.

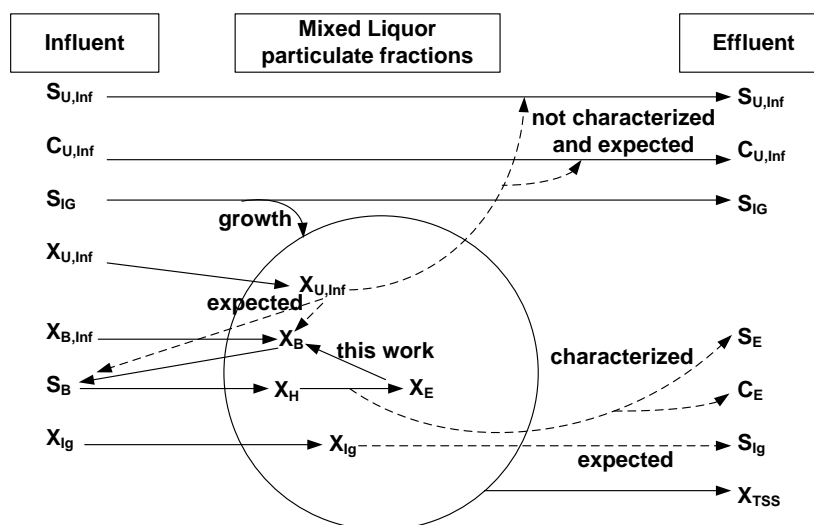


Figure 7.10 - Fate of the mixed liquor particulate components at long SRTs

7.4 Conclusion

Activated sludge for this investigation was generated using an MBR system fed acetate as a sole carbon source, giving a VSS matrix essentially constituted of the heterotrophic biomass (X_H) and the endogenous residue (X_E). This sludge was digested under either fully aerobic (run 1) or intermittent fermentation conditions (run 2), in a membrane digestion unit (MDU) that was operated at complete solids retention for a total duration of 80 days in each run. Results from this investigation indicated an apparent slow biodegradation of X_E occurring under both conditions tested. Modeling of the MDU considering a first-order decay of X_E allowed to determine values of the endogenous residue decay rate b_E of 0.0065 and 0.0072 d^{-1} in runs 1 and 2, respectively. The effect of temperature on b_E was assessed for the best operating conditions (intermittent fermentation) in batch tests using thickened sludge from the MBR system. The obtained results permitted to determine a decay rate constant b_E of 0.0075 d^{-1} at 20°C and a temperature correction factor θ of 1.0325, in close agreement with MDU results.

Results from this work will help to study the biodegradation of the influent unbiodegradable organic ($X_{U,Inf}$) and inorganic (X_{Ig}) components and the generation of the soluble unbiodegradable material originating either from the endogenous process (S_E) or from the influent ($S_{U,Inf}$).

Acknowledgements

The authors thank Denis Bouchard, technician at the Environment Engineering Laboratory and Lucie Jean, research associate and head of laboratory at the Chemical Engineering Department, both from Ecole Polytechnique of Montreal, for their technical support. This work was funded by a Collaborative Research and Development (CRD) grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) in collaboration with John Meunier Inc., Veolia Environment, EnviroSim Associates Ltd, and the City of Saint-Hyacinthe and by the Canadian Water Network.

List of abbreviations and symbols

AER.	Aerated
ASM	Activated sludge model

BCA	Bicinchoninic acid
b_E	Decay rate of the endogenous residue
b_H	Endogenous decay rate of the heterotrophic biomass
BSA	Bovine serum albumin
C1B	Colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1E	Colloidal endogenous COD with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1-PR	Colloidal proteins with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1-PS	Colloidal polysaccharides with size ranging from 0.04 and 0.45 μm
C1-UNK	Colloidal unknown organic compounds with size ranging from 0.04 and
C2B	Colloidal biodegradable COD with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2E	Colloidal endogenous COD with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-PR	Colloidal proteins with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-PS	Colloidal polysaccharides with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C2-UNK	Colloidal unknown organic compounds with size ranging from 0.45 and 1.2 μm
C_E	Colloidal unbiodegradable organic matter from the endogenous process
COD	Chemical oxygen demand
COD _{1.2}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 1.2 μm filter
COD _{0.45}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 0.45 μm filter
COD _{0.04}	Chemical oxygen demand measured on a filtrate obtained using a 0.04 μm filter
COD/VSS	Conversion factor from COD to VSS
$C_{U,\text{Inf}}$	Colloidal unbiodegradable organic matter either from the influent or from the $X_{U,\text{Inf}}$ $X_{U,\text{Inf}}$ decay (expected)

EPS	Extracellular polymeric substances
f	Endogenous residue fraction
F _A	Volatile suspended solids heterotrophic active fraction
fCOD	Filtered chemical oxygen demand
HRT	Hydraulic retention time
INT. FERMENT.	Intermittent fermentation
MBR	Membrane bioreactor
MDU	Membrane digestion unit
NH ₄	Ammonia
NO ₂	Nitrite
NO ₃	Nitrate
ORP	Oxydo-reduction potential
OUR	Oxygen uptake rate (mg O ₂ /L/h)
o-PO ₄	Orthophosphate
Pt	Total phosphorus (similar to TP)
S _B	Soluble readily biodegradable substrate
S _E	Soluble unbiodegradable organics from the endogenous process
S _{IG}	Influent soluble biodegradable inorganic fraction
S _{Ig}	Soluble inorganic fraction expected to result from the degradation of X _{Ig}
S-PR	Soluble proteins with size less than 0.04 μm
S-PS	Soluble polysaccharides with size less than 0.04 μm
SRT	Sludge retention time (d)

S_S	Soluble readily biodegradable substrate in ASM models (similar to S_B)
$S_{U,Inf}$	Soluble unbiodegradable organics either from the influent or from the $X_{U,Inf}$ decay (expected)
S-UNK	Soluble unknown organics with size less than $0.04 \mu m$
S-VFA	Soluble readily biodegradable characterized as VFAs
T	Temperature
θ	Temperature correction factor
TKN	Total Kjeldahl nitrogen
TSS	Total suspended solids
VSS	Volatile suspended solids
X_{ANO}	Active ammonia nitrifying organisms
X_B	Slowly biodegradable substrate (i.e. X_S)
X_E	Endogenous residue
X_H	Active heterotrophic biomass
X_I	Unbiodegradable organics based on the fractionation of WERF (2003)
X_{Ig}	Influent unbiodegradable inorganics (i.e. X_{II})
X_{TSS}	Effluent total suspended solids
$X_{U,Inf}$	Influent unbiodegradable organics
Y_H	Heterotrophic yield on soluble and readily biodegradable substrate
$Y_{H,Ac}$	Heterotrophic yield with acetate
WWTPs	Wastewater treatment plants

CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce projet de recherche a été commencé dans le cadre d'un programme de maîtrise recherche pour être complété au doctorat. Étudier la biodégradation du résidu endogène était un défi à relever si on se réfère au grand manque d'informations qui se présentait sur le plan théorique au début du projet.

8.1 Synthèse de l'état des connaissances au début du projet

Au départ de ce projet (été 2006), une revue de littérature intensive a été effectuée pour chercher de l'information utile quant à la composition et la biodégradabilité du résidu endogène. Le retour de cette étape de recherche était très modeste et indiquait des informations très limitées sur le résidu endogène et sur sa biodégradabilité. Ce manque d'information a pu être catégorisé dans les points essentiels suivants :

8.1.1 Structure et composition du résidu endogène

Le résidu endogène était défini en tant que débris cellulaires et fraction non biodégradable de boues activées résultant de la respiration endogène de la biomasse mais aucune information n'était disponible quant à sa composition chimique (CHNOPS) et biochimique (contenu en EPS). De plus, les modèles mathématiques considéraient le résidu endogène au même titre que la matière organique non biodégradable provenant de l'affluent ($X_{U,Inf}$) dans les stations de traitement des eaux à pleine échelle. Ces modèles intégraient le X_E avec le $X_{U,Inf}$ dans la même fraction non biodégradable X_I (Modèles ASM sauf ASM1) quoique l'origine des deux fractions soit différent. Il s'ensuivait que le X_E s'est vu affecté des ratios typiques (COD/VSS, N/VSS, P/VSS, ISS/VSS, etc.) similaires à ceux du $X_{U,Inf}$ (Henze et al, 2000). D'autres modèles affectaient, par défaut, au résidu endogène des ratios plutôt similaires à ceux de la biomasse hétérotrophe (X_H) qui est à l'origine de la génération du résidu endogène (BioWin[®] 3). Il était tout de même bien reconnu par ces auteurs que le résidu endogène représente une composante assez différente par ses propriétés spécifiques et que les ratios utilisés étaient suggérés à titre indicatif et qu'ils méritaient des études spécifiques pour leur détermination. Par ailleurs, le contenu en EPS du résidu endogène n'a jamais été abordé dans les travaux antérieurs. Ce contenu

est indispensable pour prévoir et apprécier le potentiel de biodégradation du résidu endogène et son comportement surtout à des temps de séjours très longs.

8.1.2 Paramètres du modèle de respiration endogène

Le modèle de respiration endogène (Dold, 2007; Ramdani, 2010) décrit la croissance de la biomasse hétérotrophe à partir de substrat soluble rapidement biodégradable (S_B) selon un rendement cellulaire net (Y_H), la dégradation de la biomasse (X_H) selon une cinétique de premier ordre avec un taux de respiration endogène (b_H) et la génération ou l'accumulation d'une fraction (f) de la biomasse lysée en tant que résidu endogène (X_E). Une revue de littérature effectuée par Dold (2007) indiquait que la production de boues est fortement influencée par les trois paramètres Y_H , b_H et f . Cette étude montrait que des valeurs très variables de ces paramètres ont été considérés par les auteurs pour la quantification de la production des boues et la demande carbonée en oxygène (Barker and Dold, 1997; Metcalf & Eddy, 2003; Henze et al., 2000). Certes ces auteurs arrivaient à estimer leur production de boues et demande en oxygène avec des valeurs différentes pour les paramètres Y_H , b_H et f cependant, les fractions active (X_H) et endogène (X_E) n'étaient pas identiques dans leurs calculs théoriques. Dans ce projet où une détermination précise des proportions de X_H et de X_E (seules composantes des boues générées) était indispensable, la réévaluation de ces trois paramètres était une nécessité pressante non seulement pour la quantification du pourcentage de X_E dégradé mais aussi pour simuler les systèmes expérimentés et déterminer les taux de dégradation du X_E avec précision;

8.1.3 Biodégradabilité du résidu endogène

La biodégradation du résidu endogène est un phénomène qui n'est pas observé dans les systèmes de boues activés opérés à des temps de séjour de boues conventionnels (5 à 20 d). Ainsi, cette composante était considérée non biodégradable dans quasiment toutes les études, sa biodégradabilité a été critiquée par certains auteurs (Ekama et al., 2007) qui révisaient une première étude publiée par Araujo et al. (1998) indiquant que les fractions organiques inactives des boues (X_E et $X_{U,Inf}$) étaient dégradées dans leurs digesteurs opérés sous des conditions anaérobies. Une autre étude en MBR opéré pour une longue période en rétention complète de solides indiquait que ces fractions étaient biodégradables sans estimer l'ampleur de cette dégradation ni en déterminer la cinétique (Laera et al., 2005). Outre l'aspect controversé quant à

la biodégradation du résidu endogène, le point commun entre ces études était d'avoir travaillé avec des eaux usées réelles qui ne permettaient pas de cibler le résidu endogène ni de statuer sur sa biodégradation puisque les boues générées contenaient à la fois X_E et $X_{U,Inf}$. Dans une telle situation, on ne pourrait qu'émettre des hypothèses sur la biodégradabilité du X_E sans pouvoir confirmer que c'est du X_E qui se dégradait mais pas du $X_{U,Inf}$ (ou que les deux se dégradent simultanément). De plus, la détermination de la cinétique de dégradation ne serait pas facile à décrire et à caractériser pour chaque composante s'il y a lieu. La nécessité de travailler avec un affluent synthétique pour générer des boues ne contenant que X_H et X_E (mais pas $X_{U,Inf}$) était originale et indispensable dans ce projet pour cibler le résidu endogène.

8.1.4 Digestion des boues et du résidu endogène X_E

Les études portant sur la digestion des boues (aérobie ou anaérobie voire même combinée : aérobie/anaérobie) ont été réservées à l'étude des performances des procédés et leur optimisation (améliorer la destruction des VSS) sans aborder l'effet de la digestion sur chaque composante des VSS (X_H , $X_{U,Inf}$, X_E). La démarche globale optée dans ce projet était basée sur une combinaison à la fois de l'expérimentation, l'évaluation théorique et la simulation. Cette façon de faire permettait de cibler le X_E , de quantifier sa proportion dans les boues générées, de calculer son pourcentage dégradé et de déterminer les taux de la cinétique de dégradation dans des conditions bien contrôlées.

8.2 Sommaire des contributions originales de la thèse

La première étape de ce projet (débutée en maîtrise) était d'investiguer le potentiel de biodégradation du résidu endogène en cuvée sous des conditions anaérobies et de fermentation intermittente. L'apport fructueux de cette étape était à la base de l'extension de ce projet en thèse de doctorat. Les résultats de cette étape ont été présentés dans l'article 1 publié dans *Water Research* sous le titre : «*Biodegradation of the endogenous residue of activated sludge*».

Le manque d'informations relatif à la composition chimique et le contenu biochimique des composantes X_H et X_E a été comblé dans l'article 2 intitulé «*Characterization of the heterotrophic biomass and the endogenous residue of activated sludge*». La réévaluation des paramètres du modèle de respiration endogène pour un système alimenté en acétate a été réalisée dans l'article 3 intitulé «*Determining core parameters for activated sludge biokinetic models*».

L'apport de ces deux articles a été exploité dans la simulation du MBR et des unités de digestion et l'interprétation des résultats (% de X_E dégradé, fraction de VSS) de ces unités opérées à des rétentions complètes de solides dans ce projet. Dans ces unités de digestion, le résidu endogène devenait la composante majeure des boues digérées. Une bonne connaissance des ratios de conversion, particulièrement, (COD/VSS) pour les composantes X_H et X_E (article 2) et des paramètres du modèle de respiration endogène (rendement cellulaire des hétérotrophes (Y_H), taux de respiration endogène de la biomasse hétérotrophe (b_H) et fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f)) pour un système alimenté en acétate (article 3), permettait d'améliorer la précision dans les simulations réalisées pour la détermination de la production de boues dans le MBR et dans les unités de digestion mais aussi servait à déterminer le pourcentage de X_E dégradé et son taux de dégradation (b_E) sous différents modes de digestion dans ces unités.

Les résultats de l'article 2 viennent également apporter un complément à grande valeur ajoutée pour les spécialistes de la modélisation qui permet de préciser les ratios typiques pour X_H et X_E (COD/VSS, C/VSS, N/VSS, P/VSS, ISS/TSS, etc.). Ces ratios sont utilisés pour assurer la continuité des paramètres suivants : COD, N, P et ISS particulièrement. Le contenu biochimique (EPS) de X_H et X_E est également très intéressant pour les modèles mathématiques intégrant les substances polymériques extracellulaires dans leurs structures. Il permet aussi d'expliquer le comportement de X_H et de X_E et la génération de produits microbiens solubles dans les systèmes de boues activées et les digesteurs opérés à de longues rétentions de solides.

Quant à l'article 3, les résultats viennent confirmer les valeurs de deux paramètres essentiels dans le modèle de respiration endogène (taux de respiration endogène b_H et fraction s'accumulant en tant que fraction endogène f) par rapport aux valeurs très variables citées dans la littérature. En anoxie, le taux de respiration endogène b_H (peu investigué dans la littérature) a été déterminé en utilisant 3 méthodes dont les résultats étaient en totale concordance (*VSS-based, NUR-based and NH_4 -based methods*). L'étude indique que le rendement cellulaire des hétérotrophes (Y_H) pour un substrat simple comme l'acétate diffère de celui obtenu avec un substrat complexe (eaux usées) que ce soit en conditions aérobies ou anoxies (eaux usées) et que la nature du substrat simple (acétate versus citrate) affecte également Y_H . Il est intéressant de réaliser des investigations complètes avec d'autres substrats simples portant sur les paramètres déterminés dans cet article afin d'arriver à des conclusions plus générales.

Par ailleurs, les résultats de l'article 1 indiquent, avec des essais réalisés en cuvée, que la biodégradation du résidu endogène se produisait selon une cinétique très faible et suggère ainsi l'utilisation d'un temps de séjour très long pour la digestion des boues. Cet article montre également que l'efficacité d'enlèvement des VSS dépend du mode de digestion (anaérobie versus aération intermittente).

L'apport des articles 1, 2 et 3 a été considéré sur les plans théorique et expérimental pour la planification, la réalisation des essais et l'interprétation des résultats de l'étude présentée dans l'article 4 intitulé : «*Biodegradation of the endogenous residue of activated sludge in a membrane bioreactor with continuous or on-off aeration*». Dans cet article, l'augmentation du temps de rétention des boues a été réalisée de façon dynamique en exploitant le pouvoir des membranes à assurer un 100% de séparation de solides et à découpler le temps de rétention des solides du temps de rétention hydraulique dans les unités de digestion. Le suivi de la COD filtrable à différents niveaux (1.2, 0.45 et 0.04 μm) permettait d'apprécier le devenir des sous-produits de digestion endogènes que ce soit en aérobie ou en conditions de fermentation intermittente. L'analyse du devenir de la COD filtrable permettait de suivre la COD récalcitrante produite de façon biologique (S_E). La contribution de cet article se doit aussi à la détermination des taux de dégradation du résidu endogène (b_E) pour des conditions aérobies et de fermentation intermittente et l'effet de la température sur ce taux (coefficient de température θ).

Les éléments de contribution de cette thèse, énoncés de façon sommaire dans cette section, sont détaillés dans la section 9.3.

8.3 Synthèse des éléments de contribution de la thèse

8.3.1 Composition du X_E et de X_H

Avoir travaillé avec un affluent synthétique complètement biodégradable a permis de cibler le résidu endogène. En effet, le support de génération de boues (MBR) pour ce projet de recherche permettait de développer des boues synthétiques composées de seulement deux fractions (X_H et X_E) considérant la faible proportion de la biomasse nitrifiante (moins de 2 % de la matrice des VSS). Le résidu endogène a pu être généré par digestion aérobie en cuvée des boues du MBR pour une période de plus de 3 semaines. Ceci offrait la possibilité d'investiguer le contenu chimique du X_E par une analyse élémentaire des principaux éléments chimiques constituant la

matière organique (C, H, O, N, P et S). Cette analyse élémentaire conjointement à des analyses de COD, VSS, TSS et TOC des échantillons analysés permettait de déterminer les ratios typiques communément utilisés dans la modélisation des systèmes biologiques (COD/VSS, C/VSS, N/VSS, P/VSS, S/VSS, ISS/VSS, etc.). Une même caractérisation a été réalisée pour les boues du MBR ($X_H + X_E$), ce qui a facilité la caractérisation de X_H par un rétro-calcul considérant les proportions de X_H et X_E dans ces boues. Le même cheminement a été adopté pour investiguer le contenu biochimique de X_E et X_H .

Cette étude a permis de faire la distinction entre les deux composantes purement biologiques générées dans les systèmes de boues activées (X_H et X_E) et d'apporter une grande contribution pour les modèles mathématiques (Famille ASM) mais aussi pour les modèles basées sur des bilans de masse élémentaires pour assurer la continuité des éléments C, H, O, N, P et S. Dans ces derniers, une bonne connaissance du contenu chimique facilite l'interfaçage et la liaison entre les différents unités tel qu'il est suggéré par la méthode CBIM (*Continuity-based interfacing of models*) décrite dans les travaux de Vanrolleghem et al. (2005) et Volcke et al. (2006). Dans cette méthode, tous les composantes particulières et solubles utilisées dans le fractionnement de la COD doivent être caractérisées en termes de C, H, O, N, P et S pour assurer leur continuité en passant par exemple d'un réacteur aérobie à un digesteur anaérobie.

La caractérisation en termes d'EPS (protéines et polysaccharides particulièrement) apporte une contribution importante pour les modèles mathématiques intégrant les substances polymériques extracellulaires (EPS) et les produits microbiens solubles (SMP) dans leur structure. Elle permet de prédire les SMP générés de façon **purement biologique** (pas en provenance de l'affluent), d'apprécier leur biodégradation et de déterminer la fraction colloïdale et soluble lentement biodégradable et récalcitrante produite dans les systèmes de boues activées et digesteurs.

Les résultats obtenus à partir des caractérisations chimique et biochimique indiquent que le résidu endogène a une structure différente de celle de X_H . Le résidu endogène contient, en l'occurrence, moins d'ISS, de N, de P et de S que la biomasse active, à savoir dans les proportions suivantes : 1:4.2 pour ISS, 1:2.9 pour N, 1:5.2 pour P, 1:4.1 pour S and 1:0.98 pour le carbone. Cette caractérisation a permis de déterminer les formules chimiques suivantes pour X_E et X_H respectivement: $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$ et $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$. Ces résultats

permettront de mieux caractériser la composante non biodégradable de l'affluent $X_{U,inf}$, a priori difficile à séparer de X_E dans les boues générées dans les systèmes biologiques.

En ce qui concerne le contenu biochimique, 26 à 40 % de substances polymériques extracellulaires se sont vues attribuées à la biomasse active contre 11 à 17% pour le résidu endogène (le contenu en EPS dépendait des méthodes utilisées pour leur extraction). Ces résultats viennent indiquer que le X_E contient vraisemblablement des EPS solidement liées à sa structure. En effet, le X_E caractérisé dans cette étude a été généré après une digestion aérobie en cuvée des boues du MBR pour 3 semaines et les EPS extraites du X_E sont celles n'ayant pas pu être hydrolysées lors de cette digestion. Ceci laisse penser que ces EPS difficilement hydrolysables sont à l'origine de la faible cinétique de biodégradation du résidu endogène observée dans ce projet de recherche. Cet aspect sera rediscuté dans la section 9.3.3.

8.3.2 Paramètres du modèle de respiration endogène

Deux modèles mathématiques sont utilisés pour décrire les principaux processus microbiens gouvernant la production des fractions purement biologiques dans les systèmes de boues activées (X_H et X_E) : modèle de respiration endogène et modèle de mort-régénération (Dold, 2007; Ramdani et al., 2010). L'équivalence entre les paramètres des deux modèles (Y_H , b_H et f) et (Y_H , b_H' et f') a pu être établie considérant une consommation égale d'oxygène pour une même unité de substrat soluble (S_B) alimentée. Sur le plan expérimental, les paramètres du modèle de respiration endogène (Y_H , b_H et f) sont plus faciles à déterminer mais dans les simulateurs (tel que BioWin[®]), il y a lieu d'utiliser plutôt les paramètres du modèle de mort-régénération (Y_H , b_H' et f'). Face à une variabilité très significative au niveau des valeurs attribuées aux paramètres Y_H , b_H et f malheureusement non expliquée dans la littérature, 4 grandes questions ont été soulevées dans ce projet de recherche qui sont les suivantes :

- Est-ce que la biomasse hétérotrophe croît selon le même rendement cellulaire (Y_H) indépendamment du substrat biodégradable utilisé;
- Est-ce que la biomasse hétérotrophe (X_H) se dégrade selon une cinétique de premier ordre avec le même taux de respiration endogène (b_H)?
- Est-ce que la fraction (f) de la biomasse dégradée s'accumulant en tant que résidu endogène (X_E) est la même pour la biomasse hétérotrophe?

- Est-ce que le X_E généré s'accumule linéairement même pour des SRT élevés ou plutôt subit une dégradation selon une cinétique de premier ordre à un taux (b_E)?

Il faut noter que les paramètres du modèle de respiration endogène (b_H et f) ont permis de déterminer les proportions des composantes biologiques X_H et X_E dans la matrice des VSS. Ces proportions étaient d'une importance inévitable dans ce projet pour quantifier le pourcentage du X_E dans les boues générées dans le MBR mais aussi pour évaluer la quantité du X_E dégradée dans les unités de digestion. En parallèle, ces paramètres ont servi pour toutes les modélisations effectuées dans cette thèse et ainsi pour déterminer les taux de dégradation du X_E .

Les plages émanant de la littérature pour ces trois paramètres en conditions aérobies (chapitre 5) sont: Y_H (0.43 à 0.67 g COD/g COD), b_H (0.06 à 0.40 d⁻¹) et f (0.08 à 0.23). En conditions anoxies, ces plages sont : Y_H (0.20 à 0.54 g COD/g COD) et b_H (0.05 à 0.15 d⁻¹), le paramètre f étant le même. Il fallait donc faire un choix entre travailler avec des valeurs moyennes théoriques pour Y_H , b_H et f ou réévaluer les 3 paramètres dans des tests bien contrôlés reflétant le comportement réel des boues générées et utilisées dans ce projet. La deuxième option a été considérée afin d'assurer une interprétation solide des résultats, de réaliser des simulations plus précises et pour contribuer notamment à l'originalité du travail.

Pour des boues générées avec l'acétate comme seule source de carbone, les paramètres suivants ont été déterminées et utilisées pour les trois paramètres en aérobie et en anoxie respectivement : Y_H de 0.567 g COD/ g COD \pm 0.014 en aérobie pour 0.404 g COD/ g COD \pm 0.011 en anoxie; b_H de 0.236 d⁻¹ \pm 0.005 en aérobie pour 0.126 d⁻¹ \pm 0.004 en anoxie. Une valeur de f de 0.209 \pm 0.005 a été également déterminée.

Quant à la dégradation du résidu endogène à des SRTs très longs, elle a été caractérisée pour la première fois en aérobie dans le cadre de cette thèse dans un test d'accumulation de boues à rétention complète de solides. Les résultats indiquaient une cinétique de premier ordre et un taux de dégradation du résidu endogène (b_E) de 0.0065 \pm 0.0005 à 20°C. Ceci constitue un apport important pour la modélisation qui suggère la modification des modèles de respiration endogène et de mort-régénération, particulièrement pour les systèmes de boues activées et digesteurs opérés à des rétentions de solides élevés (30 d et +) pour tenir compte du processus microbien décrivant la dégradation du X_E .

8.3.3 Biodégradation du X_E

La biodégradabilité du résidu endogène a été étudiée sous différents modes de digestion (anaérobie et à aération intermittente en cuvée) et (aérobie et à aération intermittente avec alimentation journalière ponctuelle dans le MDU). Une approche basée sur un suivi expérimental conjugué à des calculs théoriques, utilisant les paramètres déterminés expérimentalement pour le modèle de respiration endogène, et à des simulations sur le logiciel BioWin[®] a été adoptée dans cette thèse pour évaluer la biodégradation du résidu endogène et en déterminer la cinétique. En conditions aérobies, des équations mathématiques ont été développées et utilisés pour déterminer par calcul direct le taux de dégradation du résidu endogène à 20°C (plage 0.0060-0.0065 d⁻¹). Les résultats ont confirmé le taux de dégradation obtenu par modélisation (0.0065 d⁻¹).

Contrairement aux études réalisées avec des boues contenant les deux composantes $X_{U,inf}$ et X_E , il était très avantageux de travailler dans ce projet avec des boues ne contenant que du X_E (en plus de la biomasse active X_H). En effet, ces boues lorsqu'elles sont soumises à une digestion en cuvée ou sous une rétention complète de solides, et indépendamment du mode de digestion utilisé, génèrent du résidu endogène additionnel suite à la dégradation de la biomasse hétérotrophe (X_H). Une digestion complète de la biomasse X_H conduit ainsi à la génération d'une quantité additionnelle de X_E valant $f * X_H$. Cet aspect a été exploité dans ce projet pour mettre en évidence la biodégradation du résidu endogène en comparant le résiduel en VSS réellement observé à la fin des tests avec un résiduel théorique déterminé en considérant que le résidu endogène ne subissait aucune dégradation dans ces tests. Cette façon de faire permettait d'apprécier l'écart très significatif déterminé entre les valeurs des résiduels en VSS théorique et expérimental et de démontrer que le résidu endogène était bel et bien biodégradé dans nos essais de digestion.

Les tests réalisés en cuvée à une température de 35°C pour une durée de 90 d suggéraient un temps de séjour assez long pour dégrader le X_E et indiquaient que la performance de digestion et le taux de dégradation du résidu endogène dépendaient du mode de digestion. Une dégradation plus importante de VSS était observée sous des conditions de fermentation intermittente comparée à des conditions strictement anaérobies. Des simulations sur BioWin[®] permettaient de déterminer des taux de dégradation de 0.012 d⁻¹ sous une aération intermittente pour 0.005 d⁻¹ en anaérobie et ce pour une température de 35°C. Cet aspect concernant le mode de digestion suggère l'existence de biopolymères associés à la matrice des VSS qui ne sont biodégradables

que sous des conditions aérobies ou anaérobies. L'aération intermittente conjuguée à un long temps de séjour permettait de tirer avantage des deux modes de digestion et d'avoir accès à des biopolymères qui sont difficilement hydrolysables selon l'un ou l'autre mode de digestion. Ces biopolymères sont probablement des EPS fortement liées au résidu endogène tel qu'il a été signalé dans la section 9.3.1. En effet, les méthodes d'extraction des substances polymériques extracellulaires liées au résidu endogène ne permettaient de mettre en solution que 11 à 17% de la matrice du X_E . Le fait d'avoir appliqué et répété les méthodes d'extraction des EPS sur un même échantillon de X_E sans pouvoir extraire plus de matériel organique filtrable (EPS) vient indiquer que le X_E est constitué (dans plus de 83%) d'un matériel probablement autre que des EPS (ou encore des EPS très difficilement extractibles). Cette caractérisation laisse penser que la partie du X_E non caractérisée en termes d'EPS soit constituée de matériel organique assimilable à un substrat lentement biodégradable (X_B) lié à ces EPS difficilement hydrolysables dans la matrice du X_E .

Pour les conditions les plus favorables à la dégradation du résidu endogène (aération intermittente), l'effet de température sur le taux de dégradation du résidu endogène a pu être déterminé par des essais réalisés à 20 et 30°C. Un taux de dégradation de 0.0075 d^{-1} (20°C) et un coefficient de température θ de 1.0325 ont été déterminés à cet effet. Ces essais réalisés sur une durée de 150 d permettaient également de démontrer que la biodégradation du X_E se poursuivait dans le temps. En effet, des résiduels de VSS se chiffrant à seulement 10.7 % et 13.9 % ont été observés à la fin des essais à 30°C et à 20°C, respectivement. Ceci vient aussi appuyer l'hypothèse que le résidu endogène soit constitué d'EPS difficilement hydrolysables ou encore de composés organiques s'hydrolysant en partie en protéines et polysaccharides principalement.

Par ailleurs, les conditions d'opération dictées par les essais en cuvée (un long temps de séjour et une aération intermittente) ont été appliquées dans une unité de digestion membranaire MDU pour investiguer la biodégradation du résidu endogène. Cette unité recevait quotidiennement et de façon ponctuelle un volume constant de boues à caractéristiques uniformes en termes de TSS, VSS, X_H , X_E et SRT. L'utilisation des membranes permettait d'augmenter dynamiquement le temps de séjour des solides. Cette façon de procéder permettait de maximiser les processus microbiens d'hydrolyse et d'acidogenèse et d'offrir des conditions similaires aux tests réalisés en cuvée. L'intérêt de ces systèmes d'accumulation de boues est qu'un équilibre est atteint après 4 semaines d'opération une fois la masse de biomasse entrant le système devient égale à celle s'y

dégradant. Les processus majeurs après ce point d'équilibre sont alors la génération et la dégradation du résidu endogène. Les résultats obtenus par ces tests d'accumulation démontraient également la biodégradation du résidu endogène. Et une fois encore, le mode de digestion à aération intermittente s'est montré plus efficace quant à la destruction des VSS mais aussi quant à la dégradation du résidu endogène comparé à des conditions strictement aérobies. Des taux de dégradation du X_E (b_E) de 0.0072 d^{-1} et de 0.0065 d^{-1} à 20°C ont été déterminés par des simulations sur BioWin[®] pour des conditions de fermentation intermittente et complètement aérobies, respectivement.

Note : Le logiciel BioWin[®] a été particulièrement retenu dans ce projet car il contient déjà un modèle traduisant la dégradation des fractions organiques et inorganiques non biodégradables (X_E , $X_{U,Inf}$ et X_{Ig}) et il offre à l'utilisateur la possibilité d'affecter un rendement de croissance Y_H différent pour un substrat simple comme l'acétate et d'accorder différents ratios typiques (COD/VSS, N/VSS, P/VSS, ISS/VSS, etc.) pour la biomasse active X_H et le résidu endogène X_E .

8.3.4 Sous-produits de digestion

Les essais en cuvée réalisés sous des conditions anaérobies et à aération intermittente permettaient d'apprécier la génération des sous-produits filtrables, leur nature et taille et leur ultime biodégradation. Sous des conditions anaérobies, et en plus des acides gras volatils consommés dans les deux premières semaines, la génération des protéines était prépondérante comparée à des conditions à aération intermittente (ou aérobie comme on le verra plus loin). Ce résultat vient confirmer que la matrice des VSS contient des biopolymères qui ne sont hydrolysés que sous des conditions strictement aérobies ou strictement anaérobies.

La génération du matériel colloïdal se produisait particulièrement pendant les 4 premières semaines de digestion avec une présence remarquable de colloïdes de taille supérieure à $0.45 \mu\text{m}$ pour les deux conditions testées. Cette fraction se consommait dans le temps pour disparaître complètement vers la fin des tests. Ces colloïdes de taille supérieure à $0.45 \mu\text{m}$ sont donc biodégradable, principalement constitués de protéines qui se consommaient indépendamment du mode de digestion. Le matériel organique filtrable à $0.45 \mu\text{m}$ (colloïdal et soluble) caractérisé au terme des tests en cuvée, contenait plus de protéines dans les essais anaérobies et plus de polysaccharides dans les essais à aération intermittente. Ce résultat indique que dans le second cas, les protéines générées pendant la période non aérée sont fermentées et consommées pour la

dénitrification ou en période aérée mais toutefois, il reste une partie de protéines disponible mais non accessible qui serait probablement liée à des polysaccharides. En conditions anaérobies, il y a accumulation d'un pôle de protéines dans le surnageant filtré à $0.45 \mu\text{m}$ qui semble également être non accessible vu sa forte liaison avec des polysaccharides. Les polysaccharides avec une présence relativement moindre dans le surnageant semblent retarder l'hydrolyse de la matrice du X_E comme l'indique le faible taux de dégradation du résidu endogène de 0.005 d^{-1} déterminé en anaérobiose comparé à 0.012 d^{-1} obtenu sous des conditions de fermentation intermittente.

Les tests en cuvée réalisés sous une aération intermittente pour une durée de 150 d ont montré que la COD filtrable à $0.45 \mu\text{m}$ continue à décroître dans le temps mais à un taux très faible. Cette évolution était accompagnée d'une décroissance de la teneur en protéines dans la COD filtrable à $0.45 \mu\text{m}$, ce qui laisse penser que le pôle de protéines liés aux polysaccharides s'hydrolysait pour libérer des protéines biodégradables qui disparaissaient du système. Ceci explique l'observation des protéines accompagnant des polysaccharides dans le surnageant des systèmes de boues activées à pleine échelle quoique les protéines soient reconnues être biodégradables. Ce résultat vient indiquer que la COD non biodégradable mesurée aux effluents des stations d'épuration comporte une fraction générée par voie biologique suite à l'hydrolyse de la matrice des VSS et en particulier de X_H et X_E (polysaccharides, protéines, etc.). Une correction devrait être apportée au fractionnement de la COD de l'affluent car la COD non biodégradable de l'affluent telle qu'elle est estimée (COD à l'effluent) contient désormais la COD produite par le processus endogène (S_E) qui vient s'ajouter à la COD non biodégradable provenant réellement de l'affluent ($S_{U,\text{Inf}}$). Dans ces conditions, le $S_{U,\text{Inf}} = S_{U,\text{Eff}} - S_E$ ($S_{U,\text{Eff}}$ étant la COD observée à l'effluent). Ceci vient réduire la vraie valeur de la fraction $X_{U,\text{Inf}}$ déterminée par différence de la COD totale et la somme des COD des autres fractions puisque le $S_{U,\text{Inf}}$ est surestimé ($X_{U,\text{Inf}} = \text{COD}_t - S_B - X_B - X_H - S_{U,\text{Inf}}$).

Les sous-produits de digestion ont été également étudiés dans les unités d'accumulation et de digestion membranaires (MDU) sous des conditions aérobies et de fermentation intermittente. Le fait d'avoir travaillé avec des unités membranaires offrait la possibilité d'étudier l'évolution dynamique du matériel filtrable généré et d'apprécier sa taille et sa nature selon un fractionnement à 3 niveaux : colloïdes de taille supérieure à $0.45 \mu\text{m}$ et inférieure à $1.2 \mu\text{m}$, colloïdes de taille supérieures à $0.04 \mu\text{m}$ et inférieure à $0.45 \mu\text{m}$ et enfin, matériel soluble de

taille inférieure à $0.04\ \mu\text{m}$. Indépendamment du mode de digestion, les colloïdes de taille supérieure à $0.45\ \mu\text{m}$ ont été biodégradés quoiqu'avec un peu de retard (après 4 semaines) sous des conditions de fermentation intermittente du à l'acclimatation de la biomasse aux cycles d'aération-non aération et la génération excessive de substances polymériques extracellulaires. Les colloïdes de taille supérieure à $0.04\ \mu\text{m}$ et inférieure à $0.45\ \mu\text{m}$ s'accumulaient dans les deux systèmes et atteignaient un niveau limite sous des conditions aérobies ($42\ \text{mg/L}$ en 80 d d'opération), ce qui représente une accumulation de moins de $1\ \text{mg COD/L/d}$. En conditions de fermentation intermittente, cette fraction de colloïdes contenait également du matériel biodégradable résiduel qui était non consommé considérant la courte période d'aération. La biodégradabilité du surnageant du MDU a été investiguée dans un test en cuvée pour étudier son ultime biodégradabilité. Les résultats indiquaient une fraction colloïdale de l'ordre de $51\ \text{mg COD/L}$ et venaient confirmer l'existence d'une fraction colloïdale récalcitrante aussi bien en aérobie que sous une aération intermittente.

Il faut noter que la rétention complète de ce matériel colloïdal dans le système membranaire (MDU) a du contribuer à l'amélioration de sa biodégradabilité. En effet, les boues produites dans le MBR et qui ont été alimentées au MDU contenaient déjà une fraction colloïdale ($25\ \text{mg COD/L}$) qui devrait contribuer à une accumulation additionnelle de ce matériel. Mais, un comportement inverse a été observé dans le MDU indiquant une biodégradation partielle de ce matériel. Ceci confirme la décroissance du matériel filtrable à $0.45\ \mu\text{m}$ qui a été observée dans les tests en cuvée de 150 d. Dans les systèmes de bioréacteur à membranes ou de boues activées opérés à des temps de rétention conventionnelle (5 à 20 d), la fraction colloïdale ($0.04\ \mu\text{m}$ à $0.45\ \mu\text{m}$) devrait être plus importante que ce qui a été enregistré dans le MDU opéré à une rétention complète de solides. La biodégradabilité de cette fraction composée de polysaccharides liés à des protéines demande des SRTs assez élevés, ce qui pourrait amener à la considérer comme étant récalcitrante pour ces SRTs conventionnels.

En ce qui concerne la fraction soluble (taille inférieure à $0.04\ \mu\text{m}$), le MDU affichait relativement la même concentration ($20\ \text{mg COD/L}$) en matériel non biodégradable indépendamment du mode de digestion. Ce matériel était composé en polysaccharides principalement (protéines seulement de l'ordre de $5\ \text{mg COD/L}$).

La caractérisation du matériel organique filtrable généré dans le MDU indique qu'indépendamment du mode de digestion, la COD particulièrement filtrable à $0.45\ \mu\text{m}$ contient

du matériel soluble récalcitrant (taille inférieure à $0.04 \mu\text{m}$) mais aussi une fraction colloïdale de taille supérieure à $0.04 \mu\text{m}$. Cette fraction devrait se trouver à l'effluent d'une station d'épuration et contribuer ainsi à la COD non biodégradable, situation qui vient indiquer une nécessité de revoir le fractionnement de la COD de l'affluent, précisément pour évaluer la fraction $S_{U,Inf}$, utilisée dans les modèles mathématiques. Cette fraction telle qu'elle est évaluée dans ces modèles contient une portion de matériel non biodégradable généré suite au processus endogène (S_E).

8.3.5 Ozonation du X_E

L'ozonation du résidu endogène a été investiguée dans ce projet pour déterminer si une étape d'ozonation de boues activées avec un haut contenu en X_E peut être envisagée en guise de couplage de systèmes biologiques et chimiques. À notre connaissance, l'ozonation du X_E seul n'a jamais été étudiée par le passé et ce travail vient apporter des éléments très originaux quant à l'ozonation de cette composante de boues activées sur les plans théorique et pratique.

Les échantillons du résidu endogène ozonés ont été préparés de telle sorte qu'ils aient un contenu négligeable en matière filtrable (organique ou inorganique) dans l'objectif d'éliminer toutes les substances ayant une demande en ozone. En effet, après génération du résidu endogène par digestion prolongée en cuvée des boues du MBR ($X_H + X_E$), les échantillons ont été centrifugés et lavés deux fois avec de l'eau déionisée avant d'entamer l'étape d'ozonation. Cette façon de procéder permettait de déterminer les doses d'ozone réellement consommées par le X_E et éventuellement par les sous-produits d'ozonation réoxydés.

Les résultats d'ozonation du X_E indiquaient qu'un degré de solubilisation assez élevé peut être atteint mais à de fortes doses spécifiques d'ozone (85% et 95% à des doses de 450 et de 1380 mg $O_3/g X_E$, X_E exprimé en unité COD). Il faut noter que le degré de solubilisation entre ces deux doses n'a été augmenté que de 10% en triplant la dose spécifique en ozone indiquant que les sous-produits d'ozonation (colloïdaux et solubles) induisaient une demande additionnelle en ozone. Pour la plage de doses spécifiques en ozone testées, l'action minéralisante de l'ozone était absente et l'augmentation de la dose en ozone était plutôt consommée par les sous-produits d'ozonation.

La biodégradabilité des sous-produits d'ozonation a été également évaluée et affichait un profil similaire à celui de la solubilisation. Un degré de biodégradation en raison de $0.25 g BOD_5/g X_E$

a été enregistré à une dose spécifique de 450 mg O_3 /g X_E (X_E exprimé en unité COD). Seulement 0.02 g BOD_5 /g X_E additionnels ont été observés une fois la dose spécifique en ozone a été triplée. Ceci laisse penser qu'une dose spécifique en ozone optimale aux-alentours de 450 mg COD/ g X_E doit être appliquée.

Les résultats obtenus sur l'ozonation du X_E montrent que cette fraction difficilement biodégradable a une demande très importante en ozone. Ainsi, l'ozonation de boues activées préalablement digérées en aérobie ou anaérobie de même que des boues activées issues d'un système biologique opéré en mode d'aération prolongée (majoritairement constituées des fractions X_E et $X_{U,Inf}$) peut garantir un degré de solubilisation très important avoisinant les 100% mais les doses spécifiques en ozone à appliquer seront énormes occasionnant des coûts d'opération non justifiés.

8.4 Validité des hypothèses scientifiques originales

L'importance des conclusions émises dans cette thèse repose sur la validité des hypothèses scientifiques originales formulées dans l'introduction. Une hypothèse scientifique est considérée valide si toutes les prédictions qui en découlent se sont montrées justes après vérification expérimentale.

8.4.1 Composition du X_E est différente de celle du X_H

Les conclusions concernant les différences de composition entre le résidu endogène et la biomasse active ont été basées sur l'hypothèse que la composition chimique (CHNOPS) et le contenu biochimique (EPS) des deux composantes ne sont pas les mêmes. Les caractérisations du résidu endogène isolé par digestion prolongée des boues du MBR ($X_E + X_H$) et de la biomasse hétérotrophe en termes de composition chimique (CHNOPS) par analyse élémentaire et de contenu biochimique (EPS) par application de 4 méthodes d'extraction d'EPS, indiquaient des compositions très différentes entre ces deux composantes. Ces conclusions permettent de valider l'hypothèse émise au début du projet.

8.4.2 Paramètres du modèle de respiration endogène avec acétate

Les conclusions concernant les paramètres du modèle de respiration endogène indiquaient que la biomasse hétérotrophe X_H croît selon un rendement cellulaire Y_H de $0.567 \text{ g COD/g COD} \pm 0.014$ qui est inférieur à la valeur largement utilisée pour la modélisation des systèmes alimentés en affluent réel ($0.666 \text{ g COD/g COD}$), se dégrade selon un taux de respiration endogène b_H de $0.237 \text{ d}^{-1} \pm 0.005$ et génère une fraction de résidu endogène f valant 0.209 ± 0.005 . Les valeurs de b_H et f ne sont pas loin des valeurs largement acceptées dans les modèles mathématiques (0.24 d^{-1} et 0.20 respectivement). Ces conclusions reposent sur l'hypothèse qui stipule que le rendement cellulaire de la biomasse hétérotrophe Y_H dépend du substrat utilisé et a une valeur avec l'acétate inférieure à $0.666 \text{ g COD/g COD}$. Cependant, la biomasse hétérotrophe possède toujours les mêmes propriétés de dégradation indépendamment du substrat utilisé: un taux de respiration endogène b_H de 0.24 d^{-1} et une fraction endogène f de 0.20 . Les prédictions émises selon cette hypothèse ont été vérifiées expérimentalement et se sont montrées justes confirmant ainsi la validité de cette hypothèse.

8.4.3 SRT et biodégradation du résidu endogène

Les conclusions obtenues dans les essais en cuvette de même que dans le MDU opéré à une rétention complète de solides montraient qu'un SRT très long favorisait la dégradation du résidu endogène indépendamment du mode de digestion. L'enlèvement de VSS se poursuivait avec le temps de digestion atteignant des enlèvements supérieurs à 80 % pour les essais en cuvette. La dégradation du X_E a été observée dans les essais en cuvette après une période de digestion au-delà de 20 d à 35°C sous des conditions aussi bien anaérobies que de fermentation intermittente. Donc, l'hypothèse qu'un long SRT permet de rendre le X_E plus accessible et favorise sa dégradation est valide.

8.4.4 Effet du mode de digestion sur la dégradation du X_E

L'efficacité d'enlèvement des VSS et les taux de dégradation du résidu endogène montraient une dépendance importante au mode de digestion (aérobie, anaérobie ou de fermentation intermittente) que ce soit dans les essais en cuvette ou en MDU. Un enlèvement plus important de VSS a été observé en conditions de fermentation intermittente comparé à des conditions strictement aérobies ou anaérobies. Ceci s'est traduit avec des cinétiques de dégradation du X_E

plus importantes sous aération intermittente. Ces conclusions suggèrent l'existence de biopolymères dans la matrice des VSS qui ne sont hydrolysés que sous des conditions anaérobies ou aérobies mais pas sous les deux conditions, ce qui explique les différences observées dans les efficacités d'enlèvement des VSS et des taux de dégradation du X_E . Les résultats obtenus viennent confirmer l'hypothèse qui stipule que le mode de digestion affecte la dégradation du X_E .

8.4.5 Solubilisation du X_E par ozonation

Les résultats de solubilisation obtenus dans les essais en cuvée ont démontré que plus de 95 % du X_E ont été solubilisés sous l'action d'une dose spécifique en ozone de 1380 mg O_3 / g X_E (X_E en unité COD). Ces résultats confirment qu'une solubilisation complète du X_E peut être réalisée si la dose spécifique en ozone est augmentée. L'hypothèse émise à ce niveau est valide.

8.5 Impact de la thèse

Cette thèse a permis de cibler le résidu endogène généré dans les systèmes de boues activées. À notre connaissance, ce travail est le premier dans son genre dédié à l'étude de cette composante de boues activées malheureusement très peu étudiée dans la littérature. Les informations d'ordres théorique et pratique qui découlent de cette thèse présentent une contribution aux chercheurs, professionnels et spécialistes de la modélisation dans le domaine des eaux usées.

8.5.1 Modèles de respiration endogène et de mort-régénération modifiés

La biodégradation du résidu endogène suggère l'intégration d'un nouvel processus décrivant la transformation de cette composante en substrat lentement biodégradable X_B puis en substrat rapidement biodégradable S_B , particulièrement aux longs SRTs.

Lorsqu'un substrat simple comme l'acétate est utilisé, il y a lieu d'utiliser deux valeurs de rendement de croissance de la biomasse hétérotrophe : $Y_{H,Ac}$ pour l'acétate et Y_H pour la croissance avec un substrat complexe S_B . En considérant le modèle de mort-régénération, la croissance cryptique sur les sous-produits métaboliques se produit selon un rendement Y_H (et pas $Y_{H,Ac}$) même dans le cas d'un système alimenté avec de l'acétate. En effet, la biomasse hétérotrophe se dégrade indépendamment du substrat utilisé, tel qu'il a été démontré par les paramètres b_H (0.24 d^{-1}) et f (0.20) obtenus avec l'acétate et qui sont identiques à ceux largement rapportés pour un substrat complexe (S_B). Les sous-produits solubles générés et utilisés pour

la régénération ou la croissance cryptique seront, comme dans un système alimenté en substrat réel, constitués d'un substrat rapidement biodégradable complexe (S_B).

L'introduction de nouveaux processus décrivant la croissance de la biomasse hétérotrophe avec des substrats simples (acétate, propionate, méthanol, etc.) dans les simulateurs des systèmes biologiques est importante. Le fait de simuler des systèmes biologiques avec le même rendement cellulaire Y_H de 0.666 g COD/g COD peut conduire à des surestimations significatives de la production de boues (VSS) lorsque des substrats simples sont utilisés.

Les modifications apportées pour les modèles de respiration endogène et de mort-régénération aux longs SRTs sont présentées sur la Figure 6.7 (article 3, chapitre 6).

8.5.2 Produits microbiens filtrables endogènes

La majorité des simulateurs utilisés dans le domaine des eaux usées utilisent le fractionnement de la matière organique contenue dans un affluent d'eaux usées en termes de COD. Ces fractionnements considèrent que la COD non biodégradable filtrable à $0.45\mu\text{m}$ dans un affluent ($S_{U,\text{Inf}}$) est égale à celle observée à l'effluent. La présente thèse réalisée avec des boues ne contenant que des fractions biologiques (X_H et X_E) a montré que ce soit en MBR ou en unités de digestion qu'il y a accumulation de produits solubles d'origine microbienne. Ces produits résultent de l'hydrolyse des substances polymériques extracellulaires liées à la matrice des VSS mais aussi des produits intracellulaires durant le processus de respiration endogène. Ils peuvent provenir de la biomasse hétérotrophe comme de la matrice du résidu endogène étant donné le contenu en EPS lié à ces deux composantes. Les essais de digestion en cuvée comme en MDU démontraient une accumulation de produits microbiens filtrables particulièrement ceux avec une taille inférieure à $0.45\mu\text{m}$ (colloïdes et solubles). Ces produits indiquaient une biodégradabilité très faible avec une cinétique assez lente. Ceci laisse conclure que dans les systèmes de boues activées opérés à des SRTs conventionnels (5 à 20 d), ces produits vont s'accumuler et se trouver à l'effluent et contribuent ainsi à la COD filtrable à $0.45\mu\text{m}$ non biodégradable. Une attention particulière doit être faite pour l'effet de ces produits sur le fractionnement de la COD de l'affluent pour les fins de modélisation. La valeur de $S_{U,\text{Inf}}$ se trouve surestimée à l'effluent car elle contient une partie de ces produits microbiens filtrables à $0.45\mu\text{m}$. La correction de la

fraction ($S_{U,Inf}$) permet de faire une bonne estimation de $X_{U,Inf}$ dont la valeur est affectée dans le fractionnement de la COD de l'affluent.

Pour les bioréacteurs à membranes, il faut penser à distinguer entre la composante colloïdale de ces produits microbiens retenue dans le système et qui ne contribue pas à la COD non biodégradable de l'effluent, et la fraction soluble passant à travers les membranes et se trouvant à l'effluent du système. Le fractionnement conventionnel de la COD à l'affluent doit faire également la différence entre la fraction soluble non biodégradable passant à travers les membranes et la fraction colloïdale retenue dans le système et contribuant plutôt à la production des boues (purge).

8.5.3 Biodégradabilité du $X_{U,Inf}$

Jusqu'à présent, les études ayant signalé la biodégradation du résidu endogène et/ou de la fraction organique non biodégradable de l'affluent ont été réalisées avec des boues réelles qui ne permettent pas malheureusement de faire la distinction entre ces deux composantes en termes de biodégradation. Cette thèse, réalisée particulièrement dans des conditions très contrôlées avec des boues synthétiques ne contenant que X_H et X_E , apporte une réponse très déterminante quant à la question de biodégradation du résidu endogène et ouvre dès lors la porte pour étudier la biodégradation du $X_{U,Inf}$ dans des conditions mieux contrôlées. Des investigations similaires à celles réalisées dans le cadre de cette thèse pourront être considérées pour étudier la composition et le potentiel de biodégradabilité du $X_{U,Inf}$. Ainsi, à partir de boues générées dans un système alimenté en affluent réel (eau usée), les mêmes tests de digestion en cuvée et avec alimentation en MDU pourront être utilisés. Les cinétiques de dégradation démontrées dans la présente thèse pourront être utilisées pour modéliser la biodégradation du X_E . Le système sera simulé selon la même approche adopté dans cette thèse :

- En considérant que le $X_{U,Inf}$ ($b_U = 0$) est non biodégradable et que le X_E est biodégradable ($b_E \neq 0$);
- En considérant que le $X_{U,Inf}$ est biodégradable ($b_U \neq 0$) et que le X_E est biodégradable ($b_E \neq 0$);

8.5.4 Extrapolation des résultats à pleine échelle

La biodégradation du résidu endogène a été étudiée et confirmée dans le cadre de ce projet doctoral en utilisant des boues composées seulement de fractions purement biologiques (X_H et X_E). Dans les systèmes de boues activées en pleine échelle, deux autres fractions importantes réputées être non biodégradables (organique $X_{U,Inf}$ et inorganique X_{Ig}) viennent s'additionner à X_H et X_E dans la matrice des TSS. Dans l'absence d'informations exactes quant à la biodégradabilité de ces fractions sous différents modes de digestion à de longs SRTs, l'extrapolation des résultats obtenus dans cette thèse quant à la biodégradation du résidu endogène peut être faite en mettant en œuvre des méthodes de séparation physiques permettant de réduire dans de grandes proportions les deux composantes $X_{U,Inf}$ et X_{Ig} dans les boues générées dans les systèmes de boues activées. L'hydrocyclonnage et le microtamisage des boues activées sont reconnus pouvoir réduire ces deux composantes et aider à produire des boues avec un contenu élevé en X_H et X_E . Ces traitements permettront de diminuer la concentration des TSS dans la liqueur mixte donnant plus de flexibilité aux systèmes biologiques. De telles boues peuvent être digérées sous des conditions de fermentation intermittente pour favoriser la biodégradation du résidu endogène.

L'utilisation de la technologie membranaire est recommandée pour les systèmes de production de boues (MBR aéré) ou des unités utilisées pour leur digestion (MDU). Cette technologie est très performante dans les configurations suggérées où des concentrations assez élevées en solides sont atteintes et une rétention complète des TSS est réalisée. Lorsque des conditions de fermentation intermittente sont utilisées, il serait préférable d'utiliser des membranes avec des pores de taille 0.45 à 1.2 μm pour pouvoir filtrer le surnageant des unités de digestion contenant du matériel biodégradable (VFAs et protéines). Ce surnageant pourra être recirculé vers d'autres unités de la station et servira selon la configuration, pour la dénitrification ou la déphosphatation biologique ou tout simplement sera redirigé vers le réacteur biologique principal.

Les résultats de cette thèse sont plus intéressants pour les petites stations d'épuration qui ne possèdent pas un digesteur anaérobie pour générer du méthane. Avec une fermentation intermittente relativement peu coûteuse, une faible production de boues pourra être réalisée avec notamment une génération de la COD biodégradable pouvant être valorisée dans les autres unités de traitement (dénitrification et déphosphatation).

CHAPITRE 9 CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Ce projet de recherche avait pour objectif de caractériser le résidu endogène et d'investiguer sa biodégradabilité sous différents modes de digestion (aérobie, anaérobie et aération intermittente) dans des conditions d'expérimentation très contrôlées qui ciblaient cette fraction dans les boues synthétiques utilisées.

Au terme de cette thèse, les conclusions et recommandations suivantes ont été émises.

9.1 Composition du résidu endogène

La digestion aérobie prolongée en cuvée des boues synthétiques composées de X_H et X_E a permis de produire et d'isoler le résidu endogène. La caractérisation de cette composante a permis de conclure qu'elle diffère substantiellement de la biomasse hétérotrophe par un contenu faible en matière inorganique de synthèse ISS, en azote, en phosphore et en soufre. Les rapports entre X_E et X_H déterminés étaient de : 1 pour 4.3 en ISS, 1 pour 2.9 en N, 1 pour 5.2 en P et 1 pour 4.1 en S, le contenu en carbone était sensiblement le même (1 pour 0.98). Basé sur ces informations, des formules chimiques de $C_5H_{6.442}O_{2.459}N_{0.342}P_{0.016}S_{0.008}$ et de $C_5H_{6.201}O_{1.874}N_{1.002}P_{0.086}S_{0.035}$ ont été établies pour X_E et X_H respectivement.

L'investigation du contenu biochimique des composantes X_E et X_H en utilisant 4 méthodes d'extraction des substances polymériques extracellulaires indiquait également de grandes différences entre ces deux composantes : 11 à 17% dans X_E contre 26 à 40% en X_H . Le contenu en EPS analysé sur les extraits biochimiques montrait que les protéines et les polysaccharides étaient les substances les plus abondantes dans X_E et X_H (80 - 90%).

9.2 Paramètres du modèle de respiration endogènes

Cette thèse a permis de réévaluer les paramètres du modèle de respiration endogène pour un système de boues activées alimenté en acétate. Les résultats indiquaient que la biomasse hétérotrophe X_H croît avec un rendement cellulaire Y_H dont la valeur dépend énormément du substrat utilisé (acétate, citrate, eau usée réelle). Ce résultat trouve son explication dans le fait que l'énergie libre (kJ/g COD) diffère d'un substrat à un autre : 13.57 pour l'acétate contre 15.04 pour le citrate. Les valeurs obtenues pour Y_H en aérobie sont plus élevées comparées à celles en

anoxie suggérant que la biomasse déploie plus d'énergie pour adapter son métabolisme entre le milieu aérobie et anoxie ce qui réduit partiellement son rendement cellulaire. Une valeur de 0.713 a été déterminée pour le ratio Y_H (anoxie)/ Y_H (aérobie) pour l'acétate.

Les valeurs obtenues pour le taux de respiration endogène b_H ($0.237 \text{ d}^{-1} \pm 0.005$) et la fraction s'accumulant en tant que résidu endogène f (0.209 ± 0.004) en utilisant des boues synthétiques alimentées en acétate sont identiques à celles rapportées pour des boues alimentées en substrat réel (b_H de 0.24 d^{-1} et f de 0.20). Ceci laisse conclure que la biomasse hétérotrophe a un comportement identique quant au processus de respiration endogène indépendamment du substrat utilisé (acétate ou eau usée réelle). Le processus de respiration endogène se trouve cependant ralenti sous des conditions anoxie traduisant un ralentissement de l'activité de la biomasse hétérotrophe pour l'adaptation de son métabolisme endogène sous des conditions anoxies. Le taux de respiration endogène se trouve ainsi réduit de presque 50% (0.126 ± 0.004) comparé à des conditions aérobies.

9.3 Biodégradation du résidu endogène

La biodégradation du résidu endogène a été étudiée en faisant valoir l'effet de deux facteurs principaux : le SRT et le mode de digestion. Le premier facteur investigué par des essais en cuvette comme avec alimentation ponctuelle et accumulation de solides en MDU, montrait que l'efficacité de destruction des VSS se poursuivait avec le temps de rétention de solides croissant et qu'aucune limite n'a été observée particulièrement dans les essais en cuvette pour le résiduel en VSS. Le second facteur concernant le mode de digestion montrait des efficacités d'enlèvement des VSS différentes selon le mode appliqué. L'utilisation des paramètres du modèle de respiration endogène a permis de mettre en évidence et d'évaluer le pourcentage de X_E dégradé sous ces différents modes. De meilleures performances ont été obtenues sous aération intermittente que ce soit dans les essais en cuvette ou les essais avec alimentation journalière ponctuelle et accumulation de solides en MDU. Ce résultat confirme l'existence de biopolymères dans la matrice des VSS qui ne sont hydrolysés que sous des conditions strictement aérobies ou strictement anaérobies, ce qui permet de maximiser le processus d'hydrolyse sous des conditions de fermentation intermittente.

La dégradation du résidu endogène a été simulée, d'une façon assez simple, en considérant une cinétique de premier ordre et une transformation du résidu endogène en substrat lentement biodégradable (X_B) puis en substrat rapidement biodégradable (S_B).

L'effet du mode de digestion sur la destruction des VSS a été concrétisé par des cinétiques de dégradation du résidu endogène relativement plus élevées en mode de fermentation intermittente. Pour les tests en cuve, des cinétiques de dégradation du résidu endogène (b_E) de 0.005 et de 0.012 d⁻¹ ont été déterminées à 35°C pour les conditions anaérobies et de fermentation intermittente, respectivement. Dans les tests réalisés en MDU, les valeurs de b_E de 0.0065 et de 0.0072 d⁻¹ ont été déterminées à 20°C pour des conditions aérobies et de fermentation intermittente.

Pour les conditions les plus favorables à la dégradation du résidu endogène, l'effet de la température sur la constante de dégradation du résidu endogène b_E a été investigué par des essais en cuve. Une constante de dégradation b_E de 0.0075 d⁻¹ à 20°C et un coefficient de température θ de 1.0325 ont été déterminés. La plage de température investiguée étant de 20 à 35°C.

9.4 Produits microbiens filtrables endogènes

La digestion des boues synthétiques composées de X_H et X_E montrait la génération de produits microbiens filtrables à 0.45 μm très lentement biodégradables (voire récalcitrants, S_E). Ces produits provenant de X_H et X_E sont constitués principalement de polysaccharides liés à des protéines (en faible proportion) vont contribuer à la COD non biodégradable de l'effluent dans les systèmes de boues activées. Malheureusement, les modèles actuelles ne tiennent pas compte de cette fraction endogène dans l'estimation de la COD non biodégradable de l'affluent ($S_{U,Inf}$ dans le fractionnement de la COD) ce qui peut affecter l'estimation de la fraction particulaire non biodégradable ($X_{U,Inf}$) calculée par différence dans le fractionnement.

9.5 Recommandations pour des travaux futurs

La présente thèse confirme la biodégradabilité du résidu endogène. Les résultats obtenus suggèrent quelques travaux et investigations futurs.

9.5.1 Optimisation du MDU

Le volume du MDU et le temps de rétention hydraulique ont été choisis arbitrairement dans ce projet. Le choix a été orienté par le matériel disponible pour mettre sur pied le MDU et les conditions opératoires du MBR utilisé pour générer les boues alimentant le MDU. En effet, il fallait trouver un réacteur convenable pour prendre le module membranaire ZW-10 qui a une hauteur de presque 1 m. il était difficile de trouver un réacteur de volume de travail inférieur à 130 L qui peut être équipé du module en question. Le volume total du MDU était de 160 L pour permettre le nettoyage et l'entretien nécessaire. En parallèle à cette contrainte, le volume de boues disponible quotidiennement était de 20 L pour maintenir un SRT de 10.4 d dans le MBR. Il serait intéressant d'étudier l'effet du temps de rétention hydraulique sur l'efficacité de digestion et de dégradation du X_E .

Les essais en MDU ont été arrêtés intentionnellement à une durée de 80 d en raison du temps disponible pour l'investigation de deux modes de digestion différents (aérobie et à aération intermittente). Il est intéressant de réaliser les mêmes essais pour des périodes de 6 mois ou 12 mois pour voir si des performances plus importantes seront obtenues quant la dégradation du résidu endogène.

Il est également très souhaité d'utiliser un MDU équipé de membranes dont la porosité se situe dans la plage 0.45 à 1.2 μm pour pouvoir bénéficier du matériel biodégradable contenu dans le surnageant du MDU (VFAs, protéines, etc.).

9.5.2 Caractérisation microbiologique du MDU

Pour les conditions de fermentation intermittente, la période d'aération (1 à 2 h) a été utilisée pour stresser quotidiennement la biomasse méthanogène et inhiber son activité. Dans la présente thèse, les résultats indiquent que cette période d'aération permettait l'accumulation d'acides gras volatils (VFAs) et de réussir en principe à stopper l'activité méthanogène mais aucune étude spécifique n'a été réalisée pour confirmer l'absence de cette activité. En fait, le système n'était pas complètement fermé à l'atmosphère pour faire des mesures de méthane. Il est recommandé de faire une étude microbiologique pour examiner l'activité méthanogène et pour optimiser la période d'aération en conséquence. L'étude des populations hydrolytiques et acidogènes serait également appréciée.

9.5.3 Caractérisation et biodégradation du $X_{U,Inf}$

Les résultats obtenus dans cette thèse pourront être exploités pour caractériser la composition et étudier la biodégradation du $X_{U,Inf}$ selon un plan expérimental identique. Si les résultats indiquent une biodégradation similaire du $X_{U,Inf}$, il serait intéressant d'extrapoler ces résultats et mettre sur pied un procédé à pleine échelle pour la réduction de la production des boues. L'implantation d'une étape de séparation physique (microtamisage) en dépend.

RÉFÉRENCES

- Abbassi, B., Dullstein, S., Raebiger, N., 2000. Minimization of excess sludge production by increase of oxygen concentration in activated sludge flocs; Experimental and theoretical approach. *Water Research* 34 (1), 139-146.
- Abbassi, B.E., 2003. Improvement of anaerobic sludge digestion by disintegration of activated sludge using vacuum process. *Water Quality Research Journal of Canada* 38, 515-526.
- Abu-Orf, M.M., Griffin, P., Dentel, S.K., 2001. Chemical and physical pretreatment of ATAD biosolids for dewatering. *Water Science and Technology* 44 (10), 309-314.
- Ahn, Y.T., Choi, Y.K., Jeong, H.S., Chae, S.R., Shin, H.S., 2006. Modeling of extracellular polymeric substances and soluble microbial products production in a submerged membrane bioreactor at various SRTs. *Water Science and Technology* 53 (7), 209–216.
- Ahn, K. H., Park, K. Y., Maeng, S. K., Hwang, J. H., Lee, J.W., Song, K. G., Choi, S., 2002. Ozonation of wastewater sludge for reduction and recycling. *Water Science and Technology* 46 (10), 71–77.
- Ahn, K.H., Yeom, I.T., Park, K.Y., Maeng, S.K., Lee, Y., Song, K.G., Hwang, J.H., 2002. Reduction of sludge by ozone treatment and production of carbon source for denitrification. *Water Science and Technology* 46 (11-12), 121-125.
- APHA, AWWA, WEF 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st edition. American Public Health Association, Washington.
- Araujo, D.S., Luiz, Catunda, P.F.C., van Haandel, A.C., 1998. Biological sludge stabilisation Part 2: Influence of the composition of waste activated sludge on anaerobic stabilisation. *Water SA* 24, 231-236.
- Artan, N., Orhon, D., Baykal, B.B., 1990. Implications of the task group model-1. The effect of initial substrate concentration. *Water Research* 24, 1251–1258.
- Asselin, C., Chicoine, K., Parisien, A., Riffon, R., Ouellet, B., Palacek, K., Luedtke, H., 2005. Pilot testing and full-scale implementation of the low sludge production (LSP) process. *Pulp & Paper Canada* 106, 32-35.

- Avcioglu, E., Orhon, D., Sozen, S., 1998. New method for the assessment of heterotrophic endogenous respiration rate under aerobic and anoxic conditions. *Water Science and Technology* 38 (8-9), 95-103.
- Azeredo, J., Oliveira, R., Lazarova, V., 1998. New method for extraction of exopolymers from activated sludges. *Water Science and Technology* 37 (4), 367-370.
- Baier, U., Schmidheiny, P., 1997. Enhanced anaerobic degradation of mechanically disintegrated sludge. *Water Science and Technology* 36 (11), 137-143.
- Barker, P.S., Dold, P.L., 1995, COD and nitrogen mass balances in activated sludge systems. *Water Research* 29, 633-643.
- Barker, P.S., Dold, P.L., 1997a. General model for biological nutrient removal activated-sludge systems: Model presentation. *Water Environment Research* 69, 969-984.
- Barker, P.S., Dold, P.L., 1997b. General model for biological nutrient removal activated-sludge systems: model presentation. *Water Environment Research* 69, 969-984.
- Battimelli, A., Millet, C., Delgenes, J.P., Moletta, R., 2003. Anaerobic digestion of waste activated sludge combined with ozone post-treatment and recycling. *Water Science and Technology* 48 (4), 61-68.
- Boero, V.J., Bowers, A.R., Eckenfelder, W.W., 1996. Molecular weight distribution of soluble microbial products in biological systems. *Water Science and Technology* 34 (5-6), 241-248.
- Boero, V.J., Eckenfelder Jr., W.W., Bowers, A.R., 1991. Soluble microbial product formation in biological systems, 4–6 ed., Kyoto, Japan, 1067–1076.
- Bohler, M., Siegrist, H., 2004. Partial ozonation of activated sludge to reduce excess sludge, improve denitrification and control scumming and bulking. *Water Science and Technology* 49 (10), 41-49.
- Bougrier, C., Battimelli, A., Delgenes, J.-P., Carrere, H., 2007. Combined ozone pretreatment and anaerobic digestion for the reduction of biological sludge production in wastewater treatment. *Ozone: Science and Engineering* 29, 201-206.

- Brindle, K., Stephenson, T., 1996. Application of membrane biological reactors for the treatment of wastewaters. *Biotechnology and Bioengineering* 49, 601-610.
- Bruus, J.H., Nielsen, P.H., Keiding, K., 1992. On the stability of activated sludge flocs with implications to dewatering. *Water Research* 26, 1597-1604.
- Bura, R., Cheung, M., Liao, B., Finlayson, J., Lee, B.C., Droppo, I.G., Leppard, G.G., Liss, S.N., 1998. Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix. *Water Science and Technology* 37 (4), 325-333.
- Caccavo, F., Jr., Frolund, B., Van Ommen Kloeke, F., Nielsen, P.H., 1996. Deflocculation of activated sludge by the dissimilatory Fe(III)-Reducing Bacterium *Shewanella alga* BrY. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1487-1490.
- Caccavo, F., Schamberger, P.C., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1997. Role of Hydrophobicity in Adhesion of the Dissimilatory Fe(III)-Reducing Bacterium *Shewanella alga* to Amorphous Fe(III) Oxide. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 3837.
- Camacho, P., Ginestet, P., Audic, J.M., 2005. Understanding the mechanisms of thermal disintegrating treatment in the reduction of sludge production. *Water Science and Technology* 52 (10-11), 235-245.
- Canales, A., Pareilleux, A., Luc Rols, J., Goma, G., Huyard, A., 1994. Decreased sludge production strategy for domestic wastewater treatment. *Water Science and Technology* 30 (8), 97-106.
- Cesbron, D., Délérís, S., Debellefontaine, H., Roustan, M., Paul, E., 2003. Study of competition for ozone between soluble and particulate matter during activated sludge ozonation. *Chemical Engineering Research and Design* 81, 1165-1170.
- Chen, G.H., An, K.J., Saby, S., Brois, E., Djafer, M., 2003. Possible cause of excess sludge reduction in an oxic-settling-anaerobic activated sludge process (OSA process). *Water Research* 37, 3855-3866.
- Chen, G.H., Saby, S., Djafer, M., Mo, H.K., 2001. New approaches to minimize excess sludge in activated sludge systems. *Water Science and Technology* 44 (10), 203-208.

- Chen, Y., Jiang, S., Yuan, H., Zhou, Q., Gu, G., 2007. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. *Water Research* 41, 683-689.
- Chevalier, P., 2005. Traitement tertiaire du lisier de porc par un bioréacteur à membranes immergées de taille pilote. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, Canada.
- Cho, J., Ahn, K.H., Seo, Y., Lee, Y., 2003. Modification of ASM No.1 for a submerged membrane bioreactor system: including the effects of soluble microbial products on membrane fouling. *Water Science and Technology* 47 (12), 177–181.
- Choi, H.B., Hwang, K.Y., Shin, E.B., 1997. Effects on anaerobic digestion of sewage sludge pretreatment. *Water Science and Technology* 35 (10), 207-211.
- Christensen, B.E., 1999. Physical and chemical properties of extracellular polysaccharides associated with biofilms and related systems. In: Wingender, J., Neu, T.R., and Flemming, H.-C. *Microbial extracellular polymeric substances: Characterization, structure, and function*. Berlin: Springer. 143-154.
- Chudoba, P., Chudoba, J., Capdeville, B., 1992. Aspect of energetic uncoupling of microbial growth in the activated sludge process-O₂A system. *Water Science and Technology* 26 (9-11), 2477-2480.
- Cicek, N., Franco, J.P., Suidan, M.T., Urbain, V., 1998. Using a membrane bioreactor to reclaim wastewater. *Journal / American Water Works Association* 90, 105-113.
- Cioci, G., 2006. Étude de Structure-Fonction de Glycoconjugués et de Lectines bactériennes et Fongiques. Thèse de Doctorat, Université de Grenoble I – Joseph Fourier, France.
- Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2006. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties: Part I. Comparison of the efficiency of eight EPS extraction methods. *Enzyme and Microbial Technology* 38, 237-245.
- Comte, S., Guibaud, G., Baudu, M., 2007. Effect of extraction method on EPS from activated sludge: An HPSEC investigation. *Journal of Hazardous Materials* 140, 129-137.

- Copp, J.B. and Dold, P.L., 1998a. Comparing sludge production under aerobic and anoxic conditions. *Water Science and Technology*, 38(1), 285-294.
- Copp, J.B., Dold, P.L., 1998b. Confirming the nitrate-to-oxygen conversion factor for denitrification. *Water Research* 32, 1296-1304.
- Corbitt, R.A., 1999. *Standard handbook of environmental engineering*, 2nd Edition. McGraw-Hill, New York, 1216 pp.
- Corominas, L. I., Rieger, L., Takaacs, I., Ekama, G., Hauduc, H., Vanrolleghem, P. A., Oehmen, A., Gernaey, K. V., van Loosdrecht, M. C. M. and Comeau, Y., 2010. New framework for standardized notation in wastewater treatment modelling. *Water Science and Technology* 61(4), 841-857.
- Côté, P., Buisson, H., Praderie, M., 1998. Immersed membranes activated sludge process applied to the treatment of municipal wastewater. *Water Science and Technology* 38 (4-5), 437-442.
- Crain, N., Shanableh, A., Gloyna, E., 2000. Supercritical water oxidation of sludges contaminated with toxic organic chemicals. *Water Science and Technology* 42 (7-8), 363-368.
- Davies, D.G., 1999. Regulation of matrix polymer in biofilm formation and dispersion. In: Wingender, J., Neu, T.R., and Flemming, H.-C. *Microbial extracellular polymeric substances: Characterization, structure, and function*. Berlin, Springer. 93-117.
- Délérís, S., 2001. Réduction de la production de boue lors du traitement des eaux résiduaires urbaines. Analyse du traitement combiné : ozonation et traitement biologique. Thèse de Doctorat, INSA de Toulouse, France.
- Délérís, S., Geaugey, V., Camacho, P., Debellefontaine, H., Paul, E., 2002. Minimization of sludge production in biological processes: an alternative solution for the problem of sludge disposal. *Water Science and Technology* 46 (10), 63-70.
- Délérís, S., Paul, E., Audic, J.M., Roustan, M., Debellefontaine, H., 2000. Effect of ozonation on activated sludge solubilization and mineralization. *Ozone: Science and Engineering* 22, 473-486.

- Dignac, M.F., Urbain, V., Rybacki, D., Bruchet, A., Snidaro, D., Scribe, P., 1998. Chemical description of extracellular polymers: Implication on activated sludge floc structure. *Water Science and Technology* 38 (8-9), 45-53.
- Dimock, R., Morgenroth, E., 2006. The influence of particle size on microbial hydrolysis of protein particles in activated sludge. *Water Research* 40, 2064-2074.
- Djafer, M., Luck, F., Rose, J.P., Cretenot, D., 2000. Transforming sludge into a recyclable and valuable carbon source by wet air oxidation. *Water Science and Technology* 41 (8), 77-83.
- Dogruel, S., Sievers, M., Germirli-Babuna, F., 2007. Effect of ozonation on biodegradability characteristics of surplus activated sludge. *Ozone Science and Engineering*. 29 (3), 191–199.
- Dold, P.L., 2007. Quantifying sludge production in municipal Treatment Plants. *Proceedings of WEFTEC 2007, 80th Annual Conference and Exposition of the Water Environment Federation*, San Diego, CA. 1522-1549.
- Dold, P.L., Ekama, G.A., Marais, G.V., 1980. A general model for the activated sludge system process. *Progress in Water Technology* 12, 47-77.
- Doré, M., 1989. *Chimie des oxydants et traitement des eaux*. Technique et Documentation-Lavoisier, Paris, 505 pp.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-356.
- Eastman, J.A., 1977. Solubilization of organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. Ph.D. University of Washington, USA.
- Eastman, J.A., Ferguson, J.F., 1981. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *Journal Water Pollution Control Federation* 53, 352-366.
- Egemen, E., Corpening, J., Nirmalakhandan, N., 2001. Evaluation of an ozonation system for reduced waste sludge generation. *Water Science and Technology* 44 (2–3), 445–452.
- Ekama, G.A., Sotemann, S.W., Wentzel, M.C., 2007. Biodegradability of activated sludge organics under anaerobic conditions. *Water Research* 41, 244-252.

- Ekama, G.A., Wentzel, M.C., 2004. A predictive model for the reactor inorganic suspended solids concentration in activated sludge systems. *Water Research* 38, 4093-4106.
- Ekama, G.A., Wentzel, M.C., Sötemann, S.W., 2006. Tracking the inorganic suspended solids through biological treatment units of wastewater treatment plants. *Water Research* 40, 3587-3595.
- Elliott, A., Dorica, J., Brousseau, Y., 1999. Pilote scale evaluation of sludge reduction techniques at TMP/Newsprint. Mill. Pulp and Paper Canada 100, 59-63.
- EnviroSim Associates Ltd, 2010. BioWin® 3, Hamilton, Ontario, Canada.
- Frolund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research* 30, 1749-1758.
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research* 30, 1749-1758.
- Gerardi, M.H., 2006, Wastewater bacteria. Wiley-Interscience, Hoboken, N.J., 255 pp.
- Gessesse, A., Dueholm, T., Petersen, S.B., Nielsen, P.H., 2003. Lipase and protease extraction from activated sludge. *Water Research* 37, 3652-3657.
- Ghosh, S., 1991. Pilot-scale demonstration of two-phase anaerobic digestion of activated sludge. *Water Science and Technology* 23 (7-9), 1179-1188.
- Ghosh, S., Conrad, J.R., Klass, D.L., 1975. Anaerobic acidogenesis of wastewater sludge. *Journal Water Pollution Control Federation* 47, 30-45.
- Ghosh, S., Klass, D.L., 1977. Two-phase anaerobic digestion. *Mining Engineer (London)*, 373-415.
- Goel, R., Takutomi, T., Yasui, H., 2003. Anaerobic digestion of excess activated sludge with ozone pretreatment. *Water Science and Technology* 47 (12), 207-214.
- Gomec, C.Y., Kim, M., Speece, R.E., Ahn, Y., 2002. The role of pH in mesophilic anaerobic sludge solubilization. *Journal of Environmental Science and Health A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 37, 1871-1878.

- Gomec, C.Y., Speece, R.E., 2003a. Organic material solubilization of domestic primary sludge in anaerobic digestion at controlled pH. *Water Science and Technology* 48 (4), 195-198.
- Gomec, C.Y., Speece, R.E., 2003b. The role of pH in the organic material solubilization of domestic sludge in anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 48 (3), 143-150.
- Gorner, T., De Donato, P., Ameil, M.-H., Montarges-Pelletier, E., Lartiges, B.S., 2003. Activated sludge exopolymers: Separation and identification using size exclusion chromatography and infrared micro-spectroscopy. *Water Research* 37, 2388-2393.
- Grady, C.P.L., Lim, H.C., Daigger, G.T., 1999. *Biological Wastewater Treatment*, 2nd Edition. M. Dekker, New York, 1076 pp.
- Griffith, J.W., Raymond, D.H., 2002. The first commercial supercritical water oxidation sludge processing plant. *Waste Management* 22, 453-459.
- Gujer, W., Larsen, T.A., 1995. The implementation of biokinetics and conservation principles in ASIM. *Water Science and Technology* 31 (2), 257-266.
- Guellil, A., Boualam, M., Quiquampoix, H., Ginestet, P., Audic, J.M., Block, J.C., 2001. Hydrolysis of wastewater colloidal organic matter by extracellular enzymes extracted from activated sludge flocs. *Water Science and Technology* 43 (6), 33-40.
- Hartree, E.F., 1972. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry* 48, 422-427.
- Hase, C.C., Finkelstein, R.A., 1991. Cloning and nucleotide sequence of the *Vibrio cholerae* hemagglutinin/protease (HA/protease) gene and construction of an HA/protease-negative strain. *Jornal of Bacteriology* 173, 3311-3317.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., van Loosdrecht, M., 2000. *Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3*. IWA Publ., London, 121 pp.
- Higgins, M.J., Novak, J.T., 1997. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation. *Journal of Environmental Engineering* 123, 479-485.
- Hiraoka, M., Takeda, N., Sakai, S., Yasuda, A., 1985. Highly efficient anaerobic digestion with thermal pretreatment. *Water Science and Technology* 17 (4-5), 529-539.

- Holbrook, R.D., Massie, K.A., Novak, J.T., 2005. A comparison of membrane bioreactor and conventional-activated-sludge mixed liquor and biosolids characteristics. *Water Environment Research* 77, 323-330.
- Horan, N.J., Mara, D.D., 2003. *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Academic Press, Amsterdam, 819 pp.
- Hu, Z.-R., Wentzel, M.C., Ekama, G.A., 2007. A general kinetic model for biological nutrient removal activated sludge systems: Model development. *Biotechnology and Bioengineering* 98, 1242-1258.
- Hwang, K.-Y., Shin, E.-B., Choi, H.-B., 1997. A mechanical pretreatment of waste activated sludge for improvement of anaerobic digestion system. *Water Science and Technology* 36 (12), 111-116.
- Imberty, A., Wimmerová, M., Mitchell, E.P., Gilboa-Garber, N., 2004. Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition. *Microbes and Infection* 6, 221-228.
- Jiang, T., 2007. Characterization and modeling of soluble microbial products in membrane bioreactors. Ph.D. Thesis, Ghent University, Belgium,
- Jiang, T., Myngheer, S., De Pauw, D.J.W., Spanjers, H., Nopens, I., Kennedy, M.D., Amy, G., Vanrolleghem, P.A., 2008. Modelling the production and degradation of soluble microbial products (SMP) in membrane bioreactors (MBR). *Water Research* 42, 4955-4964.
- Johnson, B.R., Daigger, G.T., Novak, J.T., 2008. The use of ASM based models for the simulation of biological sludge reduction processes. *Proceedings of the IWA World Water Congress, Vienna, Austria, 7-12 September*.
- Jones, R., Parker, W., Khan, Z., Murthy, S., Rupke, M., 2007. A study of the biodegradable fraction of sludges in aerobic and anaerobic systems. *Proceedings of the Water Environment Federation Conference on Residuals and Biosolids Management, Denver, CO*, 20-35.
- Jones, R., Parker, W., Khan, Z., Murthy, S., Rupke, M., 2008. Characterization of sludges for predicting anaerobic digester performance. *Water Science and Technology* 57 (5), 721-726.

- Jones, R., Parker, W., Zhu, H., Houweling, D., Murthy, S., 2009. Predicting the degradability of waste activated sludge. *Water Environment Research* 81, 765-771.
- Jönsson, K., Jansen, J. L. C., 2006. Hydrolysis of return sludge for production of easily biodegradable carbon: Effect of pre-treatment, sludge age and temperature. *Water Science and Technology* 53 (12), 47-54.
- Jorand, F., Zartarian, F., Thomas, F., Block, J.C., Bottero, J.Y., Villemin, G., Urbain, V., Manem, J., 1995. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. *Water Research* 29, 1639-1647.
- Kamiya, T., Hirotsuji, J., 1998. New combined system of biological process and intermittent ozonation for advanced wastewater treatment. *Water Science and Technology* 38 (8-9), 145-153.
- Kappeler, J., Gujer, W., 1992. Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modelling. *Water Science and Technology* 25 (6), 125-139.
- Khor, S.L., Sun, D.D., Hay, C.T., Leckie, J.O., 2006. Comparison of submerged membrane bioreactor in different SRT conditions. *Water Practice and Technology* 1 (3), doi10.2166/wpt.2006.056.
- Kim, J., Park, C., Kim, T.-H., Lee, M., Kim, S., Kim, S.-W., Lee, J., 2003. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 95, 271-275.
- Knezevic, Z., Mavinic, D.S., Anderson, B.C., 1995. Pilot scale evaluation of anaerobic codigestion of primary and pretreated waste activated sludge. *Water Environment Research* 67, 835-841.
- Kopp, J., Mueller, J., Dichtl, N., Schwedes, J., 1997. Anaerobic digestion and dewatering characteristics of mechanically disintegrated excess sludge. *Water Science and Technology* 36 (11), 129-136.
- Kuenen, J.G., 1979. Growth yields and maintenance energy requirement in *Thiobacillus* species under energy limitation. *Archives of Microbiology* 122 (2), 183-188.

- Laera, G., Giordano, C., Pollice, A., Saturno, D., Mininni, G., 2007. Membrane bioreactor sludge rheology at different solid retention times. *Water Research* 41, 4197-4203.
- Laera, G., Pollice, A., Saturno, D., Giordano, C., Lopez, A., 2005. Zero net growth in a membrane bioreactor with complete sludge retention. *Water Research* 39, 5241-5249.
- Labelle, M.-A., Ramdani, A., Déléris, S., Gadbois, A., Dold, P., Comeau, Y., 2011. Ozonation of endogenous residue and active biomass from a synthetic activated sludge. *Water Science and Technology* 63 (2), 297-302.
- Laspidou, C.S., Rittmann, B.E., 2002a. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research* 36, 2711–2720.
- Laspidou, C.S., Rittmann, B.E., 2002b. Non-steady state modeling of extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research* 36, 1983-1992.
- Lattner, D., Flemming, H.-C., Mayer, C., 2003. ¹³C-NMR study of the interaction of bacterial alginate with bivalent cations. *International Journal of Biological Macromolecules* 33, 81-88.
- Lee, N.M., Welander, T., 1996a. Reducing sludge production in aerobic wastewater treatment through manipulation of the ecosystem. *Water Research* 30, 1781-1790.
- Lee, N.M., Welander, T., 1996b. Use of protozoa and metazoa for decreasing sludge production in aerobic wastewater treatment. *Biotechnology Letters* 18, 429-434.
- Lee, Y., Cho, J., Seo, Y., Lee, J.W., Ahn, K.-H., 2002. Modeling of submerged membrane bioreactor process for wastewater treatment. *Desalination* 146, 451–457.
- Lessie, T.G., Vander Wyk, J.C., 1972. Multiple forms of pseudomonas multivarans glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate deshydrogenase: differences in size, pyridine nucleotide specificity and susceptibility to inhibition by adenosine 50-triphosphate *Jornal of Bacteriology* 110, 1107–1117.
- Li, J., 2005. Effects of Fe (III) on floc characteristics of activated sludge. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80, 313-319.

- Li, X.Y., Yang, S.F., 2007. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. *Water Research* 41, 1022-1030.
- Li, Y.Y., Noike, T., 1992. Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment. *Water Science and Technology* 26 (3-4), 857-866.
- Liu, H., Fang, H.H.P., 2002. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *Journal of Biotechnology* 95, 249-256.
- Liu, Y., Tay, J.H., 2001. Strategy for minimization of excess sludge production from the activated sludge process. *Biotechnology Advances* 19, 97-107.
- Loris, R., Tielker, D., Jaeger, K.-E., Wyns, L., 2003. Structural Basis of carbohydrate recognition by the lectin LecB from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Molecular Biology* 331, 861-870.
- Low, E.W., Chase, H.A., 1999a. Effect of maintenance energy requirements on biomass production during wastewater treatment. *Water Research* 33, 847-853.
- Low, E.W., Chase, H.A., 1999b. Reducing production of excess biomass during wastewater treatment. *Water Research* 33, 1119-1132.
- Low, E.W., Chase, H.A., Milner, M.G., Curtis, T.P., 2000. Uncoupling of metabolism to reduce biomass production in the activated sludge process. *Water Research* 34, 3204-3212.
- Lu, S.G., Imai, T., Ukita, M., Sekine, M., Higuchi, T., 2002. Modeling prediction of membrane bioreactor process with the concept of soluble microbial product. *Water Science and Technology* 46 (11-12), 63-69.
- Lu, S.G., Imai, T., Ukita, M., Sekine, M., Higuchi, T., Fukagawa, M., 2001. A model for membrane bioreactor process based on the concept of formation and degradation of soluble microbial products. *Water Research* 35, 2038-2048.
- Lubello, C., Caffaz, S., Gori, R., Munz, G., 2009. A modified Activated Sludge Model to estimate solids production at low and high solids retention time. *Water Research* 43, 4539-4548.

- Luxmy, B.S., Kubo, T., Yamamoto, K., 2001. Sludge reduction potential of metazoa in membrane bioreactors. *Water Science and Technology* 44 (10), 197-202.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2003. *Brock biology of microorganisms*, 10th ed., Prentice-Hall/ Pearson Education Inc., Upper Saddle River, NJ, pp. 1069.
- Mahmood, T., Elliott, A., 2006. A review of secondary sludge reduction technologies for the pulp and paper industry. *Water Research* 40, 2093-2112.
- Manterola, G., Uriarte, I., Sancho, L., 2008. The effect of operational parameters of the process of sludge ozonation on the solubilisation of organic and nitrogenous compounds. *Water Research* 42, 3191–3197.
- Martin, A.J., 1927. *The activated sludge process*. MacDonald and Evans, London, 415 pp.
- Masion, A., Vilge-Ritter, A., Rose, J., Stone, W.E.E., Teppen, B.J., Rybacki, D., Bottero, J.-Y., 2000. Coagulation-flocculation of natural organic matter with Al salts: speciation and structure of the aggregates. *Environmental Science and Technology* 34, 3242-3246.
- Massé, A., Spérandio, M., Cabassud, C., 2006. Comparison of sludge characteristics and performance of a submerged membrane bioreactor and an activated sludge process at high solids retention time. *Water Research* 40, 2405-2415.
- McKinney, R.E., 1960. Complete mixing activated sludge. *Water and Sewage Works* 107 (2), 69.
- Metcalf&Eddy, 2003. *Wastewater Engineering : Treatment and Reuse*, 4th Edition. McGraw-Hill, New York, 1819 pp.
- Meunier, N., Tyagi, R.D., Blais, J.F., 1996. Traitement acide pour la stabilisation des boues d'épuration. *Canadian Journal of Civil Engineering* 23, 76-85.
- Miller, S., McMillen, D.D., Sober, G., 1996. A methd to eliminate anaerobic odors, reduce sludge volumes and increase biologic treatment efficiency in effluent treatment plants. *Proceedings of the International Environmental Conference, Exhibit, and Short Course*, May 5-8, Orlando, FL, 941-946.
- Mukherjee, S.R., Levine, A.D., 1992. Chemical solubilization of particulate organics as a pretreatment approach. *Water Science and Technology* 26 (9-11), 2289-2292.

- Muller, J., Lehne, G., Schwedes, J., Battenberg, S., Naveke, R., Kopp, J., Dichtl, N., Scheminski, A., Krull, R., Hempel, D.C., 1998. Disintegration of sewage sludges and influence on anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 38 (8-9), 425-433.
- Murthy, S.N., Novak, J.T., De Haas, R.D., 1998. Monitoring cations to predict and improve activated sludge settling and dewatering properties of industrial wastewaters. *Water Science and Technology* 38 (3), 119-126.
- Murthy, S.N., Novak, J.T., Holbrook, D.R., Surovik, F., 2000. Mesophilic aeration of autothermal thermophilic aerobically digested biosolids to improve plant operations. *Water Environment Research* 72, 476-483.
- Nagare, H., Tsuno, H., Saktaywin, W., Soyama, T., 2008. Sludge ozonation and its application to a new advanced wastewater treatment process with sludge disintegration. *Ozone Science and Engineering* 30 (2), 136-144.
- Nah, I.W., Kang, Y.W., Hwang, K.-Y., Song, W.-K., 2000. Mechanical pretreatment of waste activated sludge for anaerobic digestion process. *Water Research* 34, 2362-2368.
- Neis, U., Nickel, K., Tiehm, A., 2000. Enhancement of anaerobic sludge digestion by ultrasonic disintegration. *Water Science and Technology* 42 (9), 73-80.
- Neyens, E., Baeyens, J., Weemaes, M., De Heyder, B., 2002. Advanced biosolids treatment using H₂O₂-oxidation. *Environmental Engineering Science* 19, 27-35.
- Nielsen, P.H., Frølund, B., Keiding, K., 1996. Changes in the composition of extracellular polymeric substances in activated sludge during anaerobic storage. *Applied Microbiology and Biotechnology* 44, 823-830.
- Novak, J.T., Banjade, S., Murthy, S.N., (In Press). Combined anaerobic and aerobic digestion for increased solids reduction and nitrogen removal. *Water Research*.
- Novak, J.T., Chon, D.H., Curtis, B.-A., Doyle, M., 2007. Biological solids reduction using the cannibal process. *Water Environment Research* 79, 2380-2386.
- Novak, J.T., Sadler, M.E., Murthy, S.N., 2003. Mechanisms of floc destruction during anaerobic and aerobic digestion and the effect on conditioning and dewatering of biosolids. *Water Research* 37, 3136-3144.

- Orhon, D., Artan, N., Cimsit, Y., 1989. The concept of soluble residual product formation in the modelling of activated sludge. *Water Science and Technology* 21 (4-5), 339–350.
- O'Rourke, J.T., 1968. Kinetics of anaerobic waste treatment at reduced temperatures. Ph.D. Stanford University, California, USA.
- Ouyang, C.F., Chang, T.G., 1991. Increased stability of anaerobic digestion by controlled recirculation. In: *Proceedings of the 15th Biennial Conference of the International Association on Water Pollution Research and Control*, July 29, 1990 - August 3, 1990, Kyoto, Japan, 1229-1237.
- Ouyang, C.F., Lin, H.Y., 1992. A study of controlled recirculation of anaerobic activated sludge digestion reactors. *Proceedings of the 16th Biennial Conference of the International Association on Water Pollution Research and Control - Water Quality International*, May 24-30, Washington, DC, USA, 2449-2452.
- Park, C., Abu-Orf, M.M., Novak, J.T., 2006a. The digestibility of waste activated sludges. *Water Environment Research* 78, 59-68.
- Park, C., Muller, C.D., Abu-Orf, M.M., Novak, J.T., 2006b. The effect of wastewater cations on activated sludge characteristics: Effects of aluminum and iron in floc. *Water Environment Research* 78, 31-40.
- Park, C., Novak, J.T., Helm, R.F., Ahn, Y.-O., Esen, A., 2008. Evaluation of the extracellular proteins in full-scale activated sludges. *Water Research* 42, 3879-3889.
- Parkin, G.F., Owen, W.F., 1986. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. *Journal of Environmental Engineering* 112, 867-920.
- Paul, E., Debellefontaine, H., 2007. Reduction of excess sludge produced by biological treatment processes: Effect of ozonation on biomass and on sludge. *Ozone Science and Engineering* 29 (6), 415–427.
- Peck, B., Ortkamp, M., Diehl, K.D., Hundt, E., Knapp, B., 1999. Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Research* 27 (16), 3325-3333.

- Penaud, V., Delgenes, J.P., Moletta, R., 1999. Thermo-chemical pretreatment of a microbial biomass: influence of sodium hydroxide addition on solubilization and anaerobic biodegradability. *Enzyme and Microbial Technology* 25, 258-263.
- Pérez-Elvira, S., Nieto Diez, P., F.-Polanco, F., 2006. Sludge minimisation technologies. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 5, 375-398.
- Pinnekamp, J., 1989. Effects of thermal pretreatment of sewage sludge on anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 21 (4-5), 97-108.
- Pirt, S. J., 1965. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 163 (991), 224-231.
- Pollice, A., Giordano, C., Laera, G., Saturno, D., Mininni, G., 2007. Physical characteristics of the sludge in a complete retention membrane bioreactor. *Water Research* 41, 1832-1840.
- Pollice, A., Laera, G., 2005. Effects of complete sludge retention on biomass build-up in a membrane bioreactor. *Water Science and Technology* 52 (10-11), 369-375.
- Pollice, A., Laera, G., Blonda, M., 2004. Biomass growth and activity in a membrane bioreactor with complete sludge retention. *Water Research* 38, 1799-1808.
- Pollice, A., Laera, G., Saturno, D., Giordano, C., 2008. Effects of sludge retention time on the performance of a membrane bioreactor treating municipal sewage. *Journal of Membrane Science* 317, 65-70.
- Pollice, A., Laera, G., Saturno, D., Giordano, C., Sandulli, R., 2008. Optimal sludge retention time for a bench scale MBR treating municipal sewage. *Water Science and Technology* 57 (3), 319-322.
- Poxon, T.L., Darby, J.L., 1997. Extracellular polyanions in digested sludge: Measurement and relationship to sludge dewaterability. *Water Research* 31, 749-758.
- Qasim, S.R., 1999. *Wastewater Treatment Plants : Planning, Design and Operation*. Technomic Publishing, Lancaster, PA, 1107 pp.
- Ramdani, A., Dold, P., Déléris, S., Lamarre, D., Gadbois, A., Comeau, Y., 2010. Biodegradation of the endogenous residue of activated sludge. *Water Research* 44, 2179-2188.

- Ramdani, A., Dold, P., Gadbois, A., Déléris, S., Houweling, D., Comeau, Y., (Submitted). Characterization of the heterotrophic biomass and the endogenous residue of activated sludge.
- Ramdani, A., Dold, P., Gadbois, A., Déléris, S., Houweling, D., Comeau, Y., (Submitted). Determining core parameters for activated sludge biokinetic models.
- Ras, M., Girbal-Neuhauser, E., Paul, E., Spérandio, M., Lefebvre, D., 2008. Protein extraction from activated sludge: An analytical approach. *Water Research* 42, 1867-1878.
- Rasmussen, H., Bruus, J.H., Keiding, K., Nielsen, P.H., 1994. Observations on dewaterability and physical chemical and microbiological changes in anaerobically stored activated sludge from a nutrient removal plant. *Water Research* 28, 417-425.
- Rasmussen, H., Nielsen, P.H., 1996. Iron reduction in activated sludge measured with different extraction techniques. *Water Research* 30, 551-558.
- Raszka, A., Chorvatova, M., Wanner, J., 2006. The role and significance of extracellular polymers in activated sludge. Part I: Literature review. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* 34, 411-424.
- Ratsak, C.H., Kooi, B.W., van Verseveld, H.W., 1994. Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate *tetrahymena pyriformis* grazing on the bacterium *pseudomonas fluorescens*. *Water Science and Technology* 29 (7), 119-128.
- Recyc-Québec 2003. Bilan 2002 de la gestion des matières résiduelles au Québec, Bibliothèque nationale du Québec, pp. 45.
- Rittmann, B.E., McCarty, P.L., 2001. *Environmental biotechnology : principles and applications*. McGraw-Hill, New York, 754 pp.
- Russell, J.B., Cook, G.M., 1995. Energetics of Bacterial Growth - Balance of Anabolic and Catabolic Reactions. *Microbiological Reviews* 59, 48-62.
- Saby, S., Djafer, M., Chen, G.-H., 2003. Effect of low ORP in anoxic sludge zone on excess sludge production in oxic-settling-anoxic activated sludge process. *Water Research* 37, 11-20.

- Saby , S., Djafer, M., Chen, G.H., 2002. Feasibility of using a chlorination step to reduce excess sludge in activated sludge process. *Water Research* 36, 656-666.
- Scheminski, A., Krull, R., Hempel, D.C., 2000. Oxidative treatment of digested sewage sludge with ozone. *Water Science and Technology* 42 (9), 151-158.
- Shanableh, A., Shimizu, Y., 2000. Treatment of sewage sludge using hydrothermal oxidation - technology application challenges. *Water Science and Technology* 41 (8), 85-92.
- Shimizu, T., Kudo, K., Nasu, Y., 1993. Anaerobic waste-activated sludge digestion - a bioconversion mechanism and kinetic model. *Biotechnology and Bioengineering* 41, 1082-1091.
- Siegrist, H., Brunner, I., Koch, G., Phan, L.C., Le, V.C., 1999. Reduction of biomass decay rate under anoxic and anaerobic conditions. *Water Science and Technology* 39 (1), 129-137.
- Smith, E., 1971. Method for the treatment of aqueous waste. Patent number 3,591,491.
- Smith, E., 1973. Microbial biolysis process. Patent Number 3,718,582
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150, 76-85.
- Sobeck, D.C., Higgins, M.J., 2002. Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation. *Water Research* 36, 527-538.
- Sotemann, S.W., Ristow, N.E., Wentzel, M.C., Ekama, G.A., 2005. A steady state model for anaerobic digestion of sewage sludges. *Water SA* 31, 511-528.
- Spérandio, M., Urbain, V., Audic, J.M., Paul, E., 1999. Use of carbon dioxide evolution rate for determining heterotrophic yield and characterising denitrifying biomass. *Water Science and Technology* 39 (1), 139-146.
- Springer, M., Dietrich, V.G., Higby, C.M., Digiacomio, D., 1996. Feasibility study of sludge lysis and recycle in the activated sludge process. *TAPPI* 79, 162-170.
- Stuart, P., Kenny, R., Sointio, J., 2000. A critical review of the Low Sludge Production (LSP) process for the pulp and paper industry. *Pulp & Paper Canada*, 102(4), 23-27.

- Takaara, T., Sano, D., Konno, H., Omura, T., 2007. Cellular proteins of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride. *Water Research* 41, 1653-1658.
- Takács, I., 2008, Experiments in activated sludge modelling. Ph.D. Thesis, Ghent University, Belgium, pp. 267.
- Takács, I., Vanrolleghem, P.A., Wett, B., Murthy, S., 2007. Elemental balance based methodology to establish reaction stoichiometry in environmental modeling. *Water Science and Technology* 56 (9), 37-41.
- Tanaka, S., Kamiyama, K., 2002. Thermochemical pretreatment in the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Science and Technology* 46 (10), 173-179.
- Tanaka, S., Kobayashi, T., Kamiyama, K.-I., Lolita, M., Signey Bildan, N., 1997. Effects of thermochemical pretreatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Science and Technology* 35 (8), 209-215.
- Tezuka, Y., 1969. Cation-dependent flocculation in a *Flavobacterium* species predominant in activated sludge. *Applied Microbiology* 17, 222-226.
- Tiehm, A., Nickel, K., Neis, U., 1997. The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Science and Technology* 36 (11), 121-128.
- Tiehm, A., Nickel, K., Zellhorn, M., Neis, U., 2001. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. *Water Research* 35, 2003-2009.
- Urbain, V., Block, J.C., Manem, J., 1993. Bioflocculation in activated sludge: An analytic approach. *Water Research* 27, 829-838.
- van Dijk, L., Roncken, G.C.G., 1997. Membrane bioreactors for wastewater treatment: the state of the art and new developments. *Water Science and Technology* 35 (10), 35-41.
- van Haandel, A.C., Catunda, P.F.C., Araujo, L.D.S., 1998. Biological sludge stabilisation Part 1: kinetics of aerobic sludge digestion. *Water SA* 24, 223-230.
- van Haandel, A.C., Van Der Lubbe, J., 2007. *Handbook Biological Waste Water Treatment: Design and Optimisation of Activated Sludge Systems*. Quist Publishing, Leidschendam, The Netherlands, 533 pp.

- van Loosdrecht, M.C.M., Henze, M., 1999. Maintenance, endogeneous respiration, lysis, decay and predation. *Water Science and Technology* 39 (1), 107-117.
- Vanrolleghem, P.A., Rosen, C., Zaher, U., Copp, J., Benedetti, L., Ayesa, E., Jeppsson, U., 2005. Continuity-based interfacing of models for wastewater systems described by Petersen matrices. *Water Science and Technology* 52 (1-2), 493-500.
- Vavilin, V.A., Fernandez, B., Palatsi, J., Flotats, X., 2008. Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management* 28, 939-951.
- Vilge-Ritter, A., Masion, A., Boulange, T., Rybacki, D., Bottero, J.-Y., 1999. Removal of natural organic matter by coagulation-flocculation: A pyrolysis-GC-MS study. *Environmental Science and Technology* 33, 3027-3032.
- Volcke, E.I.P., van Loosdrecht, M.C.M., Vanrolleghem, P.A., 2006. Continuity-based model interfacing for plant-wide simulation: A general approach. *Water Research* 40, 2817-2828.
- Wang, Q., Kuninobu, M., Kakimoto, K., I-Ogawaa, H., Kato, Y., 1999. Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by ultrasonic pretreatment. *Bioresource Technology* 68, 309-313.
- Wang, Z., Wu, Z., Tang, S., 2009. Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor. *Water Research* 43, 2504-2512.
- Wanga, Q., Kuninobu, M., Ogawa, H.I., Kato, Y., 1999. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy* 16, 407-416.
- Ward, A., David Stensel, H., Ferguson, J.F., Ma, G., Hummel, S., 1998. Effect of autothermal treatment on anaerobic digestion in the dual digestion process. *Water Science and Technology* 38 (8-9), 435-442.
- Washington, D.R., Hetling, L.J., 1965. Volatile Sludge Accumulation in Activated Sludge Plants. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 37, 499-507.

- Washington, D.R., Symons, J.M., 1962. Volatile sludge accumulation in activated sludge systems. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 34, 767-790.
- Weemaes, M., Grootaerd, H., Simeons, F., Huysmans, A., Verstraete, W., 2000a. Ozonation of sewage sludge prior to anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 42 (9), 175-178.
- Weemaes, M., Grootaerd, H., Simoons, F., Verstraete, W., 2000b. Anaerobic digestion of ozonized biosolids. *Water Research* 34, 2330-2336.
- WEF, 2006. Membrane systems for wastewater treatment. Water Environment Federation, McGraw-Hill, New York, 284 pp.
- Wei, Y., Van Houten, R.T., Borger, A.R., Eikelboom, D.H., Fan, Y., 2003. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research* 37, 4453-4467.
- Weis, W.I., Drickamer, K., 1996. Structural Basis of Lectin-Carbohydrate Recognition. *Annual Review of Biochemistry* 65, 441-473.
- WERF, 2003. Methods for Wastewater Characterization in Activated Sludge Modeling. Project 99-WWF-3, Alexandria, Virginia.
- Wilen, B.-M., Jin, B., Lant, P., 2003. Relationship between flocculation of activated sludge and composition of extracellular polymeric substances. *Water Science and Technology* 47 (12), 95-103.
- Witzig, R., Manz, W., Rosenberger, S., Kruger, U., Kraume, M., Szewzyk, U., 2002. Microbiological aspects of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal wastewater. *Water Research* 36, 394-402.
- WRC, 1984. Theory, design and operation of nutrient removal activated sludge processes. Published by the Water Research Commission of South Africa.
- Yamaguchi, T., Yao, Y., Kihara, Y., 2006. Biological sludge solubilisation for reduction of excess sludge production in wastewater treatment process. *Water Science and Technology* 54 (5), 51-58.

- Yan, S. -T., Chu, L. -B., Xing, X. -H., Yu, A. -F., Sun, X. -L., Jurcik, B., 2009. Analysis of the mechanism of sludge ozonation by a combination of biological and chemical approaches. *Water Research* 43, 195–203.
- Yasui, H., Nakamura, K., Sakuma, S., Iwasaki, M., Sakai, Y., 1996. Full-scale operation of a novel activated sludge process without excess sludge production. *Water Science and Technology* 34 (3), 395-404.
- Yasui, H., Shibata, M., 1994. Innovative approach to reduce excess sludge production in the activated sludge process. *Water Science and Technology* 30 (9), 11-20.
- Zhao, Y.X., Yin, J., Yu, H.L., Han, N., Tian, F.J., 2007. Observations on ozone treatment of excess sludge. *Water Science and Technology* 56 (9), 167-175.
- Zheng, J., Graff, R.A., Fillos, J., Rinard, I., 1998. Incorporation of rapid thermal conditioning into a wastewater treatment plant. *Fuel Processing Technology* 56, 183-200.
- Zhang, G., Yang, J., Liu, H. & Zhang, J., 2009. Sludge ozonation: disintegration, supernatant changes and mechanisms. *Bioresource Technology* 100, 1505–1509.

ANNEXES

ANNEXE 1 - Prétraitements et digestion

Cette annexe regroupe sous forme de tableaux les différents prétraitements utilisés pour améliorer le rendement de la digestion.

A1.1 Prétraitement thermique

Tableau A1.1 - Études portant sur le prétraitement thermique

Étude	Conditions / Effet	Référence
Variation de T entre 62 et 175°C, temps de traitement de 15 à 120 min	<ul style="list-style-type: none"> - Solubilisation augmente avec T - Optimum obtenu pour 170°C et 60 min - Digestion anaérobie de boues prétraitées à 35°C et SRT de 5 d: 60% d'enlèvement de COD (avec augmentation de 30% de l'enlèvement de VSS) 	(Li and Noike, 1992)
Variation de T de 120 à 220 °C, temps de traitement : 45 min	- Enlèvements de VSS de 10 à 55 % pour T allant de 120 à 220 °C	(Pinnekamp, 1989)
Traitement thermique rapide de boues partiellement digérées. Temps de 30s, à 100, 160 et 220°C	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction de VSS : 10, 20 et 40 % respectivement (boues primaires) - Réduction de 55 % pour des boues secondaires (220 °C à 30 s) 	(Zheng et al., 1998)
Effet de T = 65°C pour un temps de contact de 24 h sur des boues mixtes	<ul style="list-style-type: none"> - 12 % de réduction de VSS ont été observés - Aucune différence obtenue dans la digestion anaérobie de boues prétraitées et non prétraitées 	(Ward et al., 1998)
Effet du prétraitement à T < 100°C	<ul style="list-style-type: none"> - Boues traitées à 60, 80 et 100 °C sous une pression de 3 kg/cm² - Seulement à T = 100 °C, une augmentation de 5 à 10 % de réduction de VSS ont été observés 	(Hiraoka et al., 1985)

A1.2 Prétraitement chimique

Tableau A1.2 - Études portant sur le prétraitement chimique

Étude	Conditions / Effet	Référence
Effet de l'ajout de NaOH sur la digestion anaérobie des boues mixtes	<ul style="list-style-type: none"> - Des boues secondaires prétraitées avec des doses de 36.4 à 45.4 g NaOH/g VSS ont été mélangées à des boues primaires non prétraitées - Digestion anaérobie à des SRTs de 10 à 20 d - Faible augmentation dans la réduction des VSS : 2 à 5 % 	(Knezevic et al., 1995)
Effet de l'ajout de NaOH, H ₂ O ₂ et FeSO ₄ sur la solubilisation de la matière organique particulaire	<ul style="list-style-type: none"> - Dosage : 40 mg NaOH/g TSS, 0.34 g H₂O₂/ g TSS et 1.52 mg FeSO₄/ g TSS - Réactifs utilisés séparément : augmentation de TOC soluble de 15% au max. - Réactifs combinés : augmentation de TOC soluble de 32 % - NaOH causait le max. de TOC soluble 	(Mukherjee and Levine, 1992)
Étude de la digestion de boues mixtes (80% primaires et 20% secondaires) à faible pH (1.5-5.0, H ₂ SO ₄) en anaérobie.	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction de VSS augmente dans le temps (2 h à 30 d) quand pH décroît - Réduction de TSS chute lorsque le pH décroît à cause du dépôt de CaSO₄ 	(Meunier et al., 1996)
Traitement de boues avec H ₂ O ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Boues secondaires à 6 % de matière sèche - Dosage de H₂O₂ : 0 à 3.720 g H₂O₂/100 mL de boues - Deux dosages de catalyseur : 1 et 10 mg Fe²⁺/100 mL de boues - Prétraitement à pH = 3 et T = 25 °C - Dose optimale : 0.0372 g H₂O₂/100 mL de boues - Réduction de la matière sèche : 20 % 	(Neyens et al., 2002)

A1.3 Traitement ultrasonique

Tableau A1.3 - Études portant sur le prétraitement ultrasonique

Étude	Conditions/Effet	Référence
Effet d'un prétraitement ultrasonique sur la digestion anaérobie	- 20 kHz, puissance 200 W, 2 h de prétraitement, T: 25-30 °C - Solubilisation augmente avec un max. de 75-80 % obtenu pour un prétraitement de 90 min	(Shimizu et al., 1993)
Effet d'un prétraitement ultrasonique sur la digestion des boues primaires et secondaires (53/47 de poids sec)	- Réacteur ultrasonique (3.6 kW) opéré à 21 kHz, temps de prétraitement 64 s - Réduction de VSS faible : 5 % pour un SRT de 22 d en anaérobie	(Tiehm et al., 1997; Tiehm et al., 2001)
Comparaison de l'effet de l'ultrasonique avec ceux d'autres prétraitements sur la digestion des boues secondaires	- Ultrasonique : 9 kHz, 200 W - Thermique : autoclave à 120 °C - Thermique en bain marée chaud: 60 °C - Gel à -10 °C - Production de méthane augmente pour les boues digérées après un traitement ultrasonique	(Wanga et al., 1999)
Étude de l'effet du prétraitement ultrasonique de boues secondaires sur leur digestion en anaérobie	- 9 kHz, 200 W. Durée de prétraitement : 10, 20, 30 et 40 min - Digestion anaérobie des boues prétraitées pour 11 d a été améliorée de 11, 20, 38 et 46 % pour les durées ci-haut par rapport à des références sans prétraitement	(Wang et al., 1999)
Étudier l'amélioration de la digestion anaérobie des boues secondaires par prétraitement ultrasonique	- Réacteur ultrasonique : 3.6 kW, 31 kHz, intensité acoustique variait de 5 à 18 W/cm ² - Rendement de digestion anaérobie des boues prétraitées : 32.0, 38.1 et 42.4 % pour des SRTs de 4, 8 et 16 d respectivement	(Neis et al., 2000)

A1.4 Prétraitement thermochimique

Tableau A1.4 - Études portant sur le prétraitement thermochimique

Étude	Conditions/Effet	Référence
Effet du prétraitement de boues à une dose de 0-0.85 g NaOH/g TSS à T ambiante et à 140 °C	<ul style="list-style-type: none"> - À T ambiante, dose minimale pour amorcer la solubilisation: 0.11 g NaOH /g TSS - À T ambiante : Solubilisation de 20 à 40% des TSS pour les dosages testés - À 140°C : Solubilisation de 20 à 85% des TSS - À T ambiante, la biodégradation des boues traitées atteignait un max. de 50% pour une dose de 0.32 g NaOH / g TSS (mais chute à fort dosage) - À 140°C, la biodégradabilité était supérieure avec un optimum de 60 % pour un dosage entre 0.13 et 0.16 g NaOH/g TSS 	(Penaud et al., 1999)
Effet du prétraitement thermique, chimique et thermo-chimique sur différentes boues	<ul style="list-style-type: none"> - Dose : 0.05 à 1.5 g NaOH/g VSS; T : 115 à 180 °C - Traitement chimique: Solubilisation des boues augmente avec la dose de NaOH jusqu'à une dose de 0.5 g NaOH/g VSS - Augmentation de 15% dans la réduction des VSS à 0.5 g NaOH/g VSS - Traitement thermique: il y a une augmentation de 15% dans la réduction des VSS entre 115 et 150 °C - Pour T > 150, la réduction des VSS augmente pour atteindre 30% à 180 °C - T = 130 °C pendant 5 min et ajout de NaOH : Solubilisation augmente avec la dose de NaOH pour atteindre 70 % à une dose de 0.25 g NaOH/g VSS, puis un plateau - NaOH à 0.3 g NaOH/g VSS et traitement thermique à T de 115 à 180 °C pendant 5 min: Solubilisation atteignait un plateau de 45 % 	(Tanaka et al., 1997)
Effet du traitement thermochimique sur des boues secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Boues autoclavées à 130 °C pour 5 min après ajout de NaOH en raison de 0.30 g NaOH/g VSS - Résultats : 53, 48 et 50% de solubilisation de COD, TSS et VSS - Digestion anaérobie des boues prétraitées à des SRTs de 2, 6 et 8 d. - Réduction des TSS > 60% dans tous les cas. Pour des boues non prétraitées : < 36 % pour ces 3 SRTs 	(Tanaka and Kamiyama, 2002)
Étude comparative de l'effet des différents prétraitements sur la digestion anaérobie des boues secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Thermique : 121 °C pendant 30 min - Chimique : NaOH, KOH, Mg(OH)₂ et Ca(OH)₂ - Ultrasonique : 42 kHz pour une durée de 10-120 min - Thermo-chimique : 7 g NaOH/L à 121°C - Boues thermiquement prétraitées : Solubilisation (COD) passait de 8.1 à 17.6% - Boues chimiquement prétraitées : Solubilisation passait de 8.1 à 39.8, 36.6, 10.8 et 15.3 % avec NaOH, KOH, Mg(OH)₂ et Ca(OH)₂ respectivement - NaOH : approprié pour le prétraitement chimique - Dose optimale de NaOH : 7 g/L (43.5 % de solubilisation obtenue) - Boues thermo-chimiquement prétraitées : 86.5 % de solubilisation à une dose de 9 g/L à 121 °C (30 min) - Boues ultrasoniquement prétraitées : 19.1 % de solubilisation. - Digestion anaérobie de boues prétraitées en cuvée à 37 °C pour 7 d - Résultats : 32.1, 29.8, 38.9 et 46.1 % de réduction de VSS ont été obtenus pour les prétraitements thermique, chimique, ultrasonique et thermochimique respectivement 	(Kim et al., 2003)

A1.5 Prétraitement mécanique

Tableau A1.5 - Études portant sur le prétraitement mécanique

Étude	Conditions / Effet	Référence
Évaluation du traitement mécanique de boues secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Traitement sous pression: 5 à 50 bars - Ratio initial (protéines solubles/max. protéines) = 14 % pour les boues non traitées - Le prétraitement mécanique augmente ce ratio à : 35, 55, 75, 80 et 86 % pour des pressions de : 5, 10, 20, 30 et 50 bars respectivement 	(Choi et al., 1997)
Effet du prétraitement mécanique sur la réduction des VSS dans la digestion anaérobie	<ul style="list-style-type: none"> - Essais en cuvette - Boues préalablement traitées sous 30 bars - Réduction de VSS: 13 à 50 % pour des SRTs de 2 à 26 d et 2 à 35% pour les témoins (sans prétraitement) 	(Hwang et al., 1997)
Étude du prétraitement mécanique par des <i>ball mill</i> and <i>cutting mill</i>	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Cutting mill</i> : T variait de 60-90 °C - 16% d'amélioration dans la dégradation des boues - <i>Ball mill</i> : 20% de solubilisation de boues secondaires 	(Baier and Schmidheiny, 1997)
Étude de la digestion anaérobie des boues secondaires prétraitées mécaniquement à 30 bars	<ul style="list-style-type: none"> - Essai à échelle pilote - Enlèvement de VSS après digestion anaérobie: 30 % pour des SRTs de 6, 8 et 13 d 	(Nah et al., 2000)
Étude des prétraitements suivants : <i>stired ball mill</i> , <i>high pressure homogenization</i> , <i>ultrasonic homogenization</i> , <i>shear-gap homogenization</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Digestion anaérobie de boues ayant subies ces prétraitements - SRT : 2 à 15 d - 27 % d'augmentation dans la digestion des VSS à un SRT de 4 d (prétraitement : <i>high pressure homogenization</i>) - Pour des SRTs élevés, ce pourcentage était faible 	(Kopp et al., 1997)
Étude de la digestion anaérobie de boues mécaniquement prétraitées	<ul style="list-style-type: none"> - Mêmes conditions de l'étude de (Kopp et al., 1997) - Digestion anaérobie en procédé à deux stages - Stage 1 : lit vertical immobilisant la biomasse, opéré à des SRTs de 2-7 d; - Stage 2 : réacteur anaérobie opéré à 10 d - Amélioration du degré de dégradation de 10 à 20 % - Meilleurs résultats obtenus aux SRTs faibles 	(Muller et al., 1998)

ANNEXE 2 - Méthodologie par objectif spécifique

A2.1 Objectif spécifique 1

Énoncé: Opérer un système de boues activées (MBR) alimenté en affluent synthétique complètement biodégradable (source de carbone : acétate) pour cibler le résidu endogène X_E et caractériser les boues générées en termes de proportions de X_H et de X_E ;

Il a été convenu de travailler dans ce projet avec des boues synthétiques générées au laboratoire dans un bioréacteur à membranes (MBR) aérobie (volume de 200 L) alimenté avec un affluent soluble et complètement biodégradable dont l'acétate de sodium est la seule source de carbone à laquelle s'ajoutent des solutions nutritives contenant tous les éléments essentiels au développement d'une biomasse (azote, phosphore, potassium, magnésium, calcium et éléments traces : fer, manganèse, etc.). Cet affluent sans matière non biodégradable (organique ou inorganique) a permis de générer des boues constituées de seulement deux composantes : une biomasse hétérotrophe X_H et un résidu endogène X_E , la biomasse nitrifiante étant négligeable. Pour s'assurer de la constance des paramètres mesurés sur les boues issues du MBR, une caractérisation sur base hebdomadaire a été réalisée sur ce système pour dresser un bilan hydraulique et des bilans de masse pour la demande chimique en oxygène, l'azote et le phosphore.

La Figure A2.1 illustre la composition de la liqueur mixte dans des systèmes de boues activées alimentés en affluent réel et en affluent synthétique soluble et complètement biodégradable dont la source de carbone est l'acétate de sodium. Le système de MBR a été opéré en régime permanent le long de toutes les phases de ce projet pour générer des boues à caractéristiques uniformes, particulièrement en termes de TSS, VSS, X_H and X_E et SRT. Des descriptions complètes de ce système membranaire ainsi que de l'affluent synthétique l'alimentant sont fournies à l'Annexe 3.

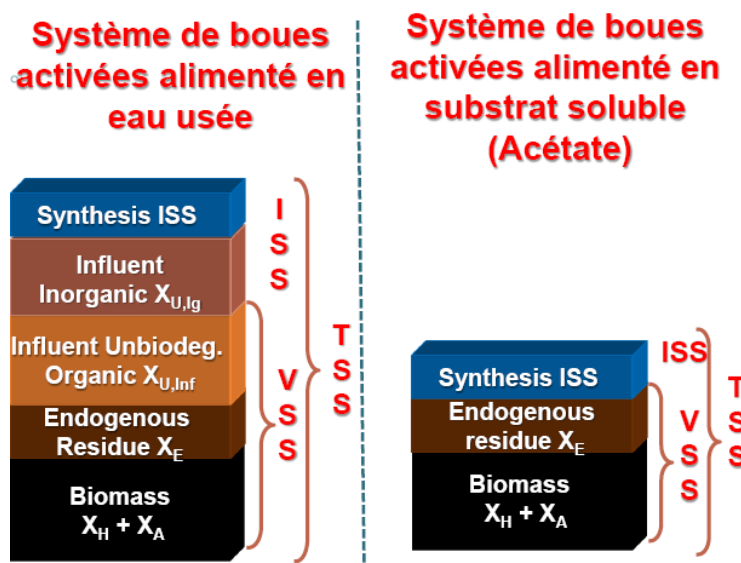


Figure A2.1 - Composition de la liqueur mixte dans des systèmes de boues activées alimentés en affluent réel et en substrat soluble (acétate)

Dans un système alimenté en substrat soluble (acétate), il était facile de déterminer les proportions de la biomasse active et du résidu endogène constituant la matrice des matières volatiles en suspension (VSS). La détermination de la fraction active a été réalisée sur les boues générées dans le MBR par des tests de digestion aérobie prolongée (21d) en cuvée dans lesquelles les réponses en termes de concentrations en VSS et/ou des taux d'utilisation d'oxygène (OUR) ont été suivies. Pour un SRT donné, il était possible de déterminer les proportions de X_H et X_E dans les boues générées dans le MBR une fois la fraction active (F_A) était quantifiée. En effet, le résidu endogène représentait une fraction $(1-F_A)$ dans ces boues.

A2.2 Objectif spécifique 2

Énoncé: Déterminer l'effet d'un long SRT (> 30 d à 35°C) sous des conditions anaérobies et de fermentation intermittente sur la biodégradation du résidu endogène en cuvée;

Les boues générées dans le MBR, préalablement concentrées, ont été digérées en cuvée dans des digesteurs de 2 L sous des conditions complètement anaérobies et sous une alternance de conditions aérées et non aérées. Ces digesteurs (*New Brunswick fermentor*) ont été équipés de modules de contrôle (*Bioflo 110*, *New Brunswick*) permettant d'ajuster la température, le pH, la vitesse d'agitation et le débit d'aération (voir schéma de la Figure 4.3 (chapitre 4) et la photo de

la Figure A2.2). La durée d'aération était assez courte (de l'ordre de 2 heures par jour) permettant d'empêcher l'activité méthanogène. Le potentiel d'oxydoréduction (ORP) a été également suivi afin d'ajuster la durée d'aération. L'échantillonnage a été minimisé sur ces deux unités et le niveau du liquide a été régulièrement ajusté (2 fois par semaine) par ajout d'eau déionisée. Pour accélérer la cinétique de digestion, les unités ont été opérées à 35°C.

Les paramètres suivants ont été suivis pour une durée de 90 jours sur les deux unités : TSS, VSS, COD totale et filtrée et VFAs. La biodégradation du X_E dans chaque unité a été évaluée tenant compte du résiduel des VSS dans chaque unité et des fractions active et endogène contenues dans les boues alimentées à ces unités au début du test. Le modèle de respiration endogène a été utilisé pour interpréter les résultats et déterminer le % de X_E dégradé.

Au terme de ces tests, et en plus des paramètres énumérés ci-dessus, une caractérisation pour les sous-produits de digestion (polysaccharides et protéines) a été réalisée.

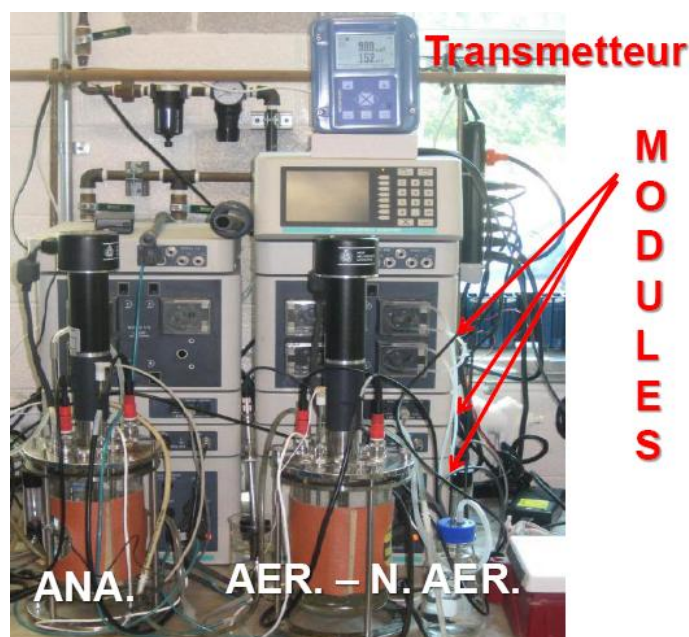


Figure A2.2 - Montage des unités de digestion en cuvette

Après avoir achevé la caractérisation des deux unités, des travaux de modélisation ont été réalisés sous le logiciel BioWin® pour évaluer la cinétique de dégradation du X_E .

Concernant les méthodes analytiques, l'analyse des acides gras volatils (VFAs) a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse au laboratoire du CIRAIG (École Polytechnique de Montréal).

La quantification des polysaccharides a été réalisée selon la méthode de Dubois (Dubois et al., 1956) et celles des protéines selon les méthodes de Hartree (Hartree, 1972) et de Smith (Smith et al., 1985). Les protocoles d'analyse des VFAs, des polysaccharides et des protéines sont présentés dans l'Annexe 4.

A2.3 Objectif spécifique 3

Énoncé: Caractériser la composition chimique (CHNOPS) et biochimique (EPS) de X_E et X_H .

Les différences de compositions chimique et biochimique entre X_H et X_E ont été peu étudiées dans la littérature. Ces différences sont très intéressantes dans les travaux de modélisation (ratios typiques COD/VSS, N/VSS, P/VSS, ISS/VSS, contenu en EPS, etc.). En effet, les simulateurs existants utilisent les modèles mathématiques ASM qui sont basés sur le fractionnement de la COD. La production de boues (VSS) est déterminée par un rétro-calcul en utilisant des ratios COD/VSS (ou COD/TSS) pour les composantes constituant la matrice des VSS : X_H , X_E , $X_{U,Inf}$ et X_B . D'où le grand intérêt à déterminer ces ratios individuels, plus spécifiquement pour X_H et X_E dans ce travail. À des âges de boues très élevés mais aussi dans les systèmes opérés à une rétention complète de solides, la composante X_E devient très importante dans les VSS et la conversion des COD en VSS dans ces modèles sera affectée par les valeurs des ratios COD/VSS considérés pour chaque composante. La même remarque est faite pour les autres ratios N/VSS, P/VSS, ISS/VSS. Pour le contenu en EPS, il est très utile pour expliquer le comportement de ces composantes dans les bioréacteurs à membranes où les produits microbiens solubles ont tendance à s'accumuler mais aussi dans les digesteurs opérés à des SRTs longs. La détermination du contenu en EPS de X_H et du X_E était d'une grande importance dans ce travail où des unités de digestions à rétentions complètes de solides ont été expérimentées.

Dans ce projet, une digestion prolongée en cuvée des boues du MBR composées de deux fractions (X_H et X_E) pour une durée d'au moins 3 semaines à 20°C, permettait de générer un résidu ultime composé complètement de X_E . Ceci a permis de faire des caractérisations chimique par analyse élémentaire pour les principaux éléments chimiques composant la matière organique C, H,O,N,P et S et biochimique pour déterminer le contenu en EPS et leur nature (protéines, polysaccharides). Les résultats de l'analyse élémentaire ont permis de déterminer les ratios typiques utiles pour les modèles mathématiques tels que : VSS/TSS, COD/VSS, ISS/TSS, N/VSS, P/VSS, etc.). En utilisant ces ratios typiques, une formule chimique de type

$C_\alpha H_\beta N_\gamma O_\eta P_\sigma S$ a pu être déterminée pour le résidu endogène. En suivant la même caractérisation pour les boues du MBR ($X_H + X_E$), les mêmes ratios typiques et contenu en EPS ont été déterminés pour ces boues. Par rétro-calcul, une caractérisation similaire a été faite pour la biomasse hétérotrophe X_H .

Afin de vérifier l'absence du matériel intracellulaire lors de l'extraction des EPS, une mesure de l'activité enzymatique glucose-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) a été réalisée. Le détail de la méthode est décrit en Annexe 5.

A2.4 Objectif spécifique 4

Énoncé : Évaluer les paramètres du modèle de respiration endogène pour un système en acétate dans des conditions aussi bien aérobie qu'anoxie: rendement de croissance (Y_H), taux de respiration endogène (b_H) et fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f).

La production de boues biologique (VSS) dans un système de boues activées opéré à un SRT donné dépend principalement de 3 paramètres : rendement de croissance (Y_H), taux de respiration endogène (b_H) et fraction s'accumulant en tant que résidu endogène (f) (Dold, 2007). Elle dépend également de la concentration de la matière organique non biodégradable de l'affluent ($X_{U,Inf}$). Dans un système alimenté en substrat soluble et complètement biodégradable tel que celui opéré dans ce travail, la production de boues est fortement conditionnée par les 3 paramètres ci-dessus. La revue de littérature montre des différences considérables au niveau de valeurs considérées pour ces paramètres (Dold, 2007; Henze et al., 2000; Kappeler and Gujer, 1992; Metcalf & Eddy, 2003). Il a été proposé dans ce travail de réévaluer ces paramètres pour un système de boues activées alimenté en acétate pour des fins de modélisation mais aussi pour quantifier avec précision la quantité de résidu endogène générée dans le MBR et dégradée dans les unités de digestion opérées à une rétention complète de solides. À des SRTs longs, un autre paramètre mérite d'être étudié et ajouté à ces 3 paramètres. Il s'agit du taux de dégradation du résidu endogène b_E . La méthodologie et les développements mathématiques pour la détermination de ces 4 paramètres sont présentés dans l'article 3 (chapitre 6).

A2.5 Objectif spécifique 5

Énoncé : Déterminer l'effet d'une rétention complète de solides sur la biodégradation du X_E dans une unité de digestion membranaire (MDU) recevant une alimentation ponctuelle en boues activées sous des conditions aérobies ou de fermentation intermittente et caractériser les produits filtrables de la digestion;

Les essais en cuvée réalisées dans le cadre de l'objectif spécifique 2 ont été performés dans des conditions optimales de température (35°C). Il est largement reconnu que l'effet de température sur l'accélération de la cinétique des digestions aérobies et anaérobies des boues peut être compensé par un temps de séjour de boues plus long. Dans l'objectif spécifique 5, il a été proposé d'exploiter cette propriété pour investiguer la dégradation du résidu endogène dans une unité de digestion membranaire (MDU). Les boues purgées du MBR opéré à un SRT de 10.4 d ont été quotidiennement alimentées à un digesteur pour étudier l'effet d'une rétention complète de solides sur l'accumulation des VSS et la dégradation du résidu endogène. Cette rétention complète a été assurée par l'utilisation d'un module membranaire ZW-10 dans la le MDU similaire à celui du MBR. Le MDU a été opéré dans un premier test sous des conditions aérobies et dans un second test sous aération intermittente (1 à 2 h par jour). Le mode opératoire du MDU pour les deux conditions testées est schématisé sur la Figure 7.1 du chapitre (7). La photo de cette unité est présentée à la Figure A2.3.

Durant toute la durée d'opération et pour les deux conditions testées, le MDU recevait les boues purgées du MBR (20 L/d) pour remplacer un volume équivalent de perméat filtré. L'alimentation de ces boues se faisait manuellement et de façon ponctuelle (0.5 minutes). Sous des conditions de fermentation intermittente, le potentiel d'oxydoréduction ORP a été suivi. La période journalière d'aération (1 à 2 h) a été utilisée pour augmenter l'ORP d'une valeur approchant -380 mV (mesurée contre une référence Ag/AgCl, KCl 1M) à des valeurs dans la plage -100 à -50 mV. Le pH dans le MDU a été contrôlé dans la plage 7.0 à 7.3 en ajoutant du bicarbonate de sodium (sel NaHCO_3). La filtration du perméat (20 L/d) du MDU sous des conditions de fermentation intermittente se faisait pendant la période d'aération pour minimiser le colmatage du module membranaire.

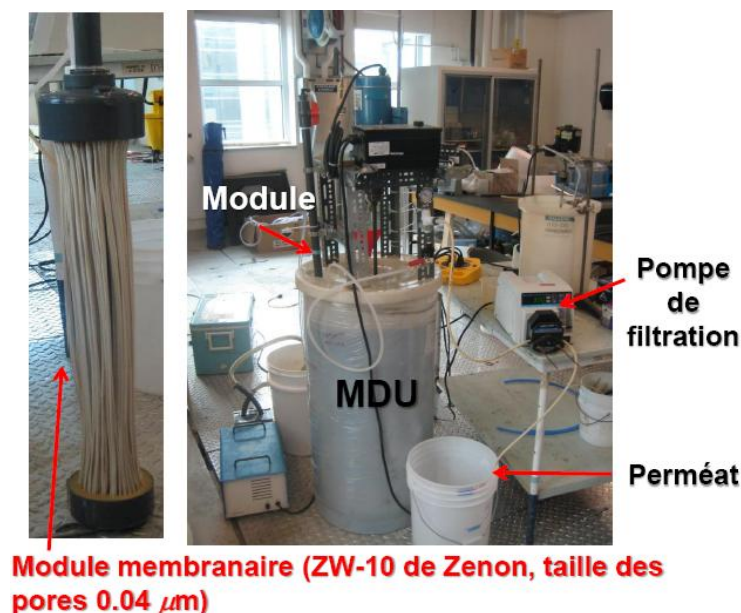


Figure A2.3 - Photo du montage du MDU

Le MDU a été caractérisé sur une base hebdomadaire pour déterminer les paramètres suivants : COD totale et soluble, matières en suspensions et matières volatiles en suspension (TSS et VSS), polysaccharides et protéines. 3 niveaux de COD filtrable ont été investigués: COD1.2 obtenue moyennant un filtre 1.2 μm , COD0.45 obtenue moyennant un filtre 0.45 μm et COD0.04 mesurée sur le perméat filtré à travers le module membranaire (porosité de 0.04 μm). La composition biochimique des trois niveaux de COD filtrable a été déterminée en termes de polysaccharides et de protéines. Sous des conditions de fermentation intermittente, les acides gras volatiles VFAs (acétique, propionique et butyrique) ont été également analysés.

Le pourcentage de dégradation du X_E a été estimé en se basant d'une part, sur les paramètres du modèle de respiration endogène déterminés dans l'objectif 4 ($b_H = 0.24 \text{ d}^{-1}$ et $f = 0.20$) et d'autre part, sur la connaissance de la fraction active de la biomasse hétérotrophe déterminée à la fin de l'expérience (jour 80). Les produits organiques filtrables de digestion ont été caractérisés et leur comportement dynamique a été étudié sur toute la période d'opération (80 d) et ce aussi bien pour les conditions aérobies qu'alternées. À la fin de l'expérimentation (80 d), l'évolution de ces produits filtrables a été également investiguée sur un cycle d'opération de 24 h pour voir si un équilibre a pu être établi dans le MDU pour les deux conditions testées. Pour évaluer la dynamique de génération et la composition biochimique (polysaccharides, protéines et acides

gras volatiles) des trois niveaux de COD filtrable, le surnageant du MDU a été caractérisé sur un cycle d'opération de 24 h à un intervalle régulier de 2 h.

La biodégradation de la COD filtrable accumulée sous des conditions de fermentation intermittente a été évaluée dans un test de croissance en mettant un volume représentatif du surnageant des boues du MDU (500 mL) en contact avec un inoculum de biomasse provenant du MBR (fraction solide contenue dans 25 mL de liqueur mixte obtenue par centrifugation). Le surnageant a été préparé par centrifugation des boues du MDU à la fin de l'expérimentation (jour 80). Le système résultant a été aéré et le pH y a été maintenu dans la plage 7.0-7.2. Ce test en cuvée a été arrêté une fois une valeur constante de la COD filtrable était atteinte (après approximativement 2 jours). Ce test permettait également de déterminer la COD récalcitrante générée dans le MDU sous des conditions de fermentation intermittente.

A2.6 Objectif spécifique 6

Énoncé : Caractériser la cinétique de dégradation du X_E :

L'effet de la température sur la cinétique de dégradation du X_E pour les conditions les plus favorables (aération intermittente) a été étudié en opérant le système décrit dans l'objectif spécifique 2 à deux autres températures (20 et 30°C). Ensuite, les VSS ont été simulées en utilisant BioWin® 3 pour les deux conditions de température en considérant une cinétique de dégradation de premier ordre du X_E en substrat lentement biodégradable (X_B) puis en substrat soluble rapidement biodégradable (S_B). En combinant les résultats obtenus à différentes températures (20, 30 et 35°) pour la constante de dégradation du résidu endogène b_E , un coefficient moyen de température θ a pu être déterminé. La simulation des VSS dans le MDU a permis également de déterminer des constantes de dégradation (b_E) à 20°C pour les conditions aérobies et à aération intermittente.

A2.7 Objectif spécifique 7

Énoncé: Déterminer l'effet de l'ozone à différentes doses sur la dégradation du X_E (optionnel).

Des tests d'ozonation ont été réalisés sur le résidu endogène obtenu après une digestion aérobie ultime des boues produites dans le MBR (4 semaines). Un tel résidu a été concentré par centrifugation et mélangé, à différents volumes, à de l'eau saturée en ozone (Fig. A2.4). Ceci permettait d'examiner l'effet de l'ozonation sur la solubilisation du X_E et ce à diverses doses spécifiques d'ozone ($\text{mg O}_3/\text{g } X_E$, X_E en unité COD). Les sous-produits d'ozonation ont été caractérisés en termes de : carbone organique total, filtré et floculé et filtré, (COT, fCOT (filtré à $0.45\mu\text{m}$) et ffCOT (floculé et filtré à $0.45\mu\text{m}$) et BOD_5 totale et filtrée. Ceci permettait d'apprécier le degré de solubilisation du X_E et de quantifier la biodégradabilité des sous-produits d'ozonation pour chaque dosage spécifique.

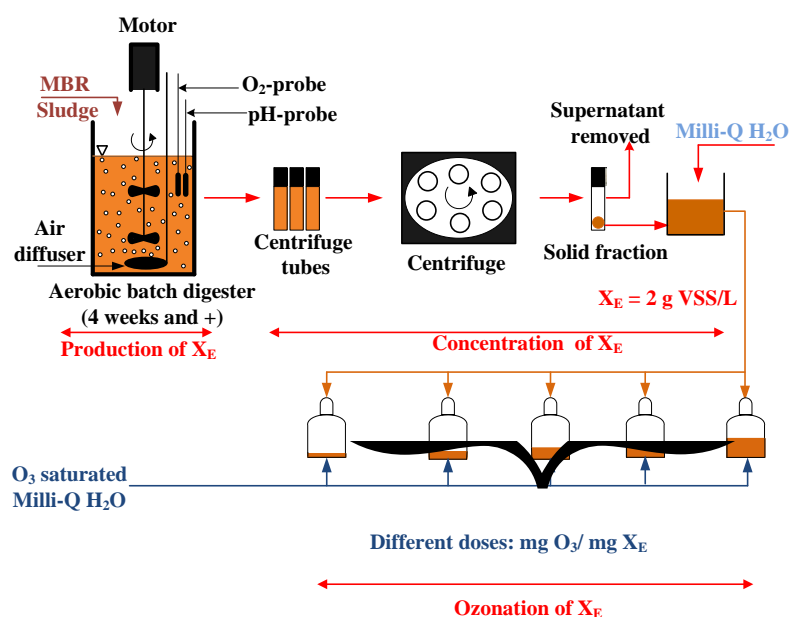


Figure A2.4 - Production, concentration et ozonation du X_E

ANNEXE 3 - Description du système de bioréacteur à membranes

A3.1 Configuration du bioréacteur à membranes

La figure A3.1 schématise le montage expérimental opéré pour générer les boues à caractéristiques constantes utilisées pour les différents tests de ce projet. Le système ainsi mis en œuvre se présentait comme suit :

- Le bioréacteur est alimenté en eau distillée via une pompe péristaltique (Tableau A3.1), eau qui passe par un réservoir de régularisation de débit d'une capacité de 20 L, muni d'un trop-plein permettant d'y maintenir un niveau d'eau constant. Celui-ci sert à éviter tout problème de surpression (en cas d'alimentation directe à une prise d'eau);
- L'aération du bioréacteur est assurée par deux moyens : un compresseur d'air fourni avec le système et un diffuseur de fond à 6 pierres poreuses. Ce dernier a été ajouté pour améliorer l'aération en assurant un bullage fine et pour éviter au mieux le colmatage rapide du module membranaire ;
- Le mélange au sein du bioréacteur est assuré par un mélangeur à deux hélices actionné par un moteur (*Barnant Mixer, series 20, 3-250 RPM de Cole Parmer*). Le système d'aération (module membranaire et diffuseur de fond) contribue également à l'efficacité du mélange dans le bioréacteur ;
- Le contrôle du niveau d'eau dans le MBR est assuré par deux sondes de niveau (*M.D.I vertical switches, Modèle SVS513SR*). La sonde du niveau haut (a été relativement modifiée au laboratoire pour fonctionner en sens contraire car ce type de sondes a été conçu pour contrôler le niveau bas). Celle-ci sert à éviter la perte de la liqueur mixte une fois le niveau arrive au trop-plein. La sonde du niveau bas permet d'éviter l'assèchement du module membranaire si une défaillance dans l'alimentation en eau distillée a eu lieu (bris de la tubulure de la pompe d'alimentation en eau pendant la nuit par exemple ou pendant les fins de semaine) ;
- Un indicateur de pression est installé sur la ligne de filtration/rétrolavage permettant de lire la pression transmembranaire (TMP) que ce soit en mode filtration ou rétrolavage. Deux relais avec témoins lumineux sont reliés à cette ligne pour indiquer tout

dépassement de la pression transmembranaire de la limite sécuritaire (55 kPa) que ce soit en filtration ou en rétrolavage. Lorsque les témoins commencent à s'allumer, le colmatage devient intense et un nettoyage chimique du module membranaire s'impose. Les nettoyages chimiques sont réalisés avec l'eau de Javel (solution de NaHOCl) dans un récipient cylindrique adéquat d'une capacité de 20 L. La dose minimale requise pour assurer un bon nettoyage est 200 ppm de NaHOCl (ne jamais dépasser 1000 ppm de OCl⁻) pour 6 h. Pour le projet, le nettoyage se faisait pour une durée de 18 h avec une solution contenant 400 ppm de NaHOCl;

- L'oxygène dissous et la température ont été mesurés en continu avec une sonde *advanced LDO* reliée à un transmetteur *SC100* de *HACH* ;
- Le pH a été maintenu dans la plage 7.3 ± 0.2 moyennant une solution de HCl 6M. Une pompe péristaltique (Tableau A2.1) a été utilisée à cet effet conjointement à un contrôleur de pH (*pH/ORP Controller de Cole Parmer, modèle 5656-00*) ;
- Le réservoir de 27 L recueillant l'eau filtrée dispose d'un trop-plein gravitaire permettant d'y maintenir un niveau d'eau constant et d'évacuer l'effluent du système vers le drain. L'autre sortie de ce réservoir, située à la même hauteur de ce trop-plein, a été aménagée de façon à permettre de mesurer le débit de l'effluent par pesée sur une balance ;
- L'alimentation organique a été assurée par une solution concentrée d'acétate de sodium trihydraté contenant une faible quantité d'extraits de levures (*Yeast extract*). Une pompe doseuse (Tableau A2.1) a été utilisée en combinaison avec une balance électronique (sensibilité 0.1 g) pour déterminer la quantité consommée de cette solution. L'alimentation minérale a été préparée avec une solution contenant les principaux éléments nutritifs : N, P, K, S, Ca et Mg, ainsi que des éléments traces : Fe, Cu, Mn, Co, B, I, F, Al, Mo et Zn. Une quantité d'EDTA a été ajoutée en tant qu'agent chimique chélateur des minéraux dans la solution concentrée. Les solutions de calcium et de magnésium ont été alimentées de façon séparée pour éviter le problème de dépôt et d'interaction avec les autres éléments. Des pompes péristaltiques ont été utilisées pour alimenter ces solutions (Tableau A2.1). Plus de détails sur cette recette seront présentés dans la section : affluent synthétique ;
- La purge des boues du système est assurée via une pompe péristaltique (Tableau A2.1) contrôlée par une minuterie programmable (*Programmable timer de Aube technologies*)

inc., modèle *TI-1031*), ce qui a permis de définir le nombre de cycles d'opération (4 par jour) et de maintenir le SRT à la valeur désirée ;

- Enfin, un sélecteur 'F/M élevé' a été ajouté au système. Il s'agit d'une simple recirculation de la liqueur mixte vers un réservoir de 17.5 L de volume utile où se fait l'alimentation en substrat. Ce réservoir étant non aéré mais agité. Cette façon de procéder rend le substrat plus accessible à la biomasse floculante avant qu'elle soit évacuée dans la cuve aérée et présente dès lors une bonne solution pour limiter la croissance des bactéries filamenteuses.

Tableau A3.1 - Pompes péristaltiques alimentant les différentes solutions

Pompe	Modèle	Tête	Type de tubulure
Alimentation en eau distillée	Masterflex [®] , Cole Parmer, 6-600 RPM, modèle 7553-70	Masterflex [®] , Easy-Load [™] , L/S [®] , modèle 7518-02	Masterflex [®] 24, modèle Noprene [®] 06404-24
Recirculation vers le sélecteur	Masterflex [®] , Cole Parmer, 6-600 RPM, modèle 7553-20	Masterflex [®] Easy-Load [™] , L/S [®] , modèle 7518-02	Masterflex [®] 24, modèle Noprene [®] , 06404-24
Purge de boues	Masterflex [®] , Cole Parmer, 6-600 RPM, modèle 7553-20	Masterflex [®] Easy-Load [™] , L/S [®] , modèle 7518-02	Masterflex [®] 24, modèle Noprene [®] 06404-24
Alimentation organique	Masterflex [®] C/L [®] , Cole Parmer, 1-6 RPM, modèle 77120-52	Tête bicanal intégrée	Masterflex [®] , Silicone tubing, I.D 1.14 mm, modèle 07625-30
Alimentation minérale	Masterflex [®] , Cole Parmer, 6 RPM fixe, Modèle 7543-06	Quick Load [®] , modèle 7021-40	Masterflex [®] 14, modèle Noprene [®] 06402-14
Alimentation en CaCl ₂	Masterflex [®] C/L [®] , Cole Parmer, 30-200 RPM, Modèle 77120-52	Tête monocanal intégrée	Masterflex [®] , Silicone tubing, I.D 1.14 mm, modèle 07625-30
Alimentation en MgCl ₂	Masterflex [®] , Cole Parmer, 20 RPM, Modèle 7543-20	Quick Load [®] , modèle 7021-40	Masterflex [®] 14, modèle Noprene [®] 06402-14
Dosage HCl 6M	Masterflex [®] de Cole Parmer, 20 RPM fixe, Modèle 7543-20	Masterflex [®] Easy-Load [™] , L/S [®] , modèle 7518-00	Masterflex [®] 14, modèle Noprene [®] 06402-14

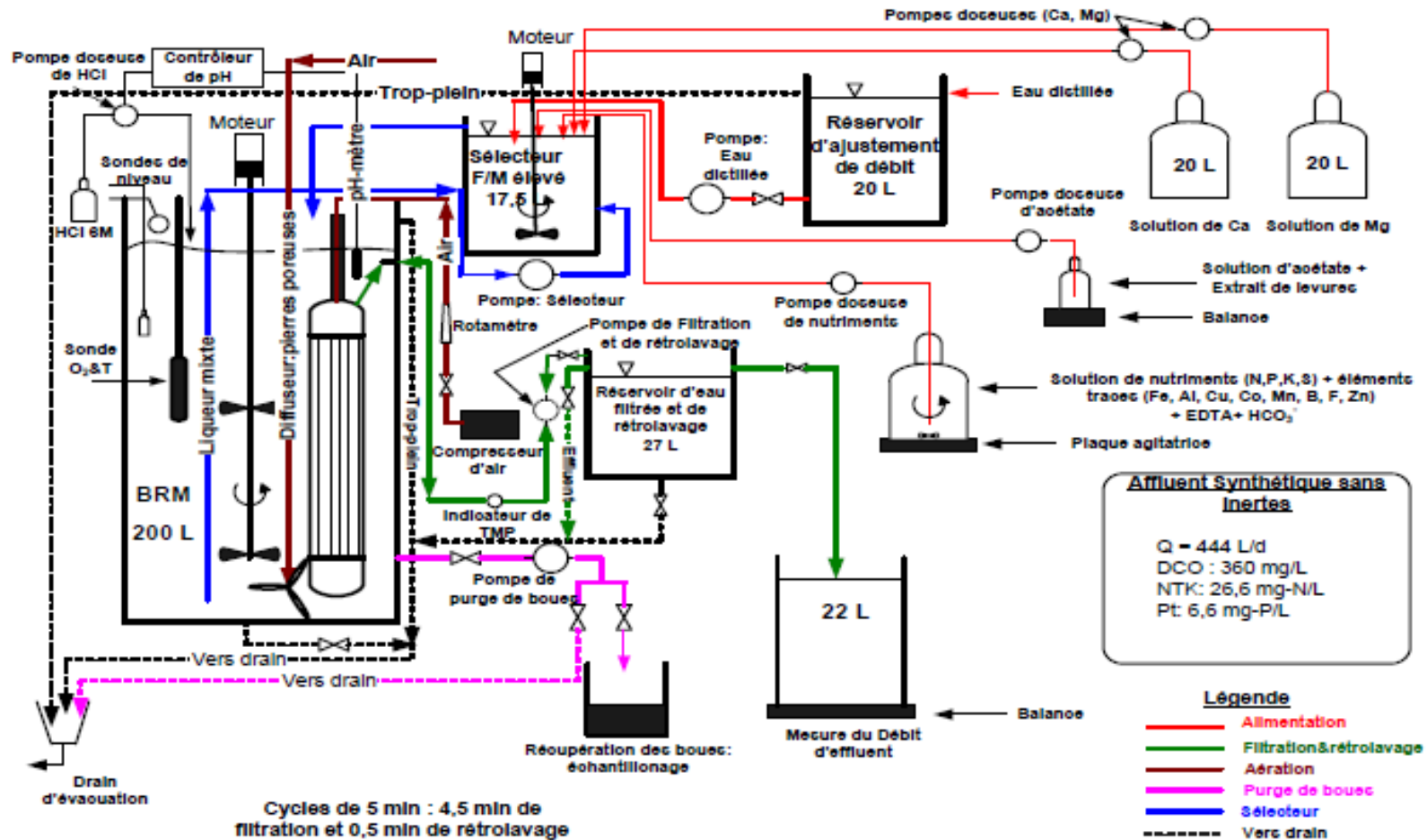


Figure A3.1 - Système de bioréacteur à membranes utilisé pour la génération de boues

A3.2 Affluent synthétique

L'affluent synthétique soluble et complètement biodégradable utilisé dans ce projet pour alimenter le système de MBR a été préparé selon la recette chimique décrite dans les tableaux A3.2 et A3.3.

Tableau A3.2 - Solutions concentrées et sels utilisés

Solution	Sel	Concentration (mg/L)	Volume préparé	Dosage (mL/min)
Solution organique	NaCH ₃ COO.3H ₂ O	461000	2 à 4 L	0.505
	Extrait de levure C ₅ H ₇ NO ₂ P _{1/12}	550		
Solution minérale	NH ₄ Cl	300000	18 L	1.539
	(NH ₄) ₂ SO ₄	3000		
	KH ₂ PO ₄	2000		
	K ₂ HPO ₄	2500		
	NaHCO ₃	30000		
	EDTA. C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ .2H ₂ O	550		
	Eléments traces	25 mL/L de solution minérale		
Solution de Ca	CaCl ₂ .2H ₂ O	8400	20 L	0.818
Solution de Mg	MgCl ₂ .6H ₂ O	2600	20 L	4.500

Tableau A3.3 - Solution concentrée d'éléments traces

Élément	Sel	Concentration (mg/L)
Fe	$\text{Fe}_4(\text{SO}_4)_3 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ ⁵	5278
Mn	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	300
Co	$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	328
Mo	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	208
Al	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	1004
F	NaF	180
B	H_3BO_3	468
Cu	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	320
I	KI	108
Zn	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	360

A3.3 Photos du montage et du module membranaire

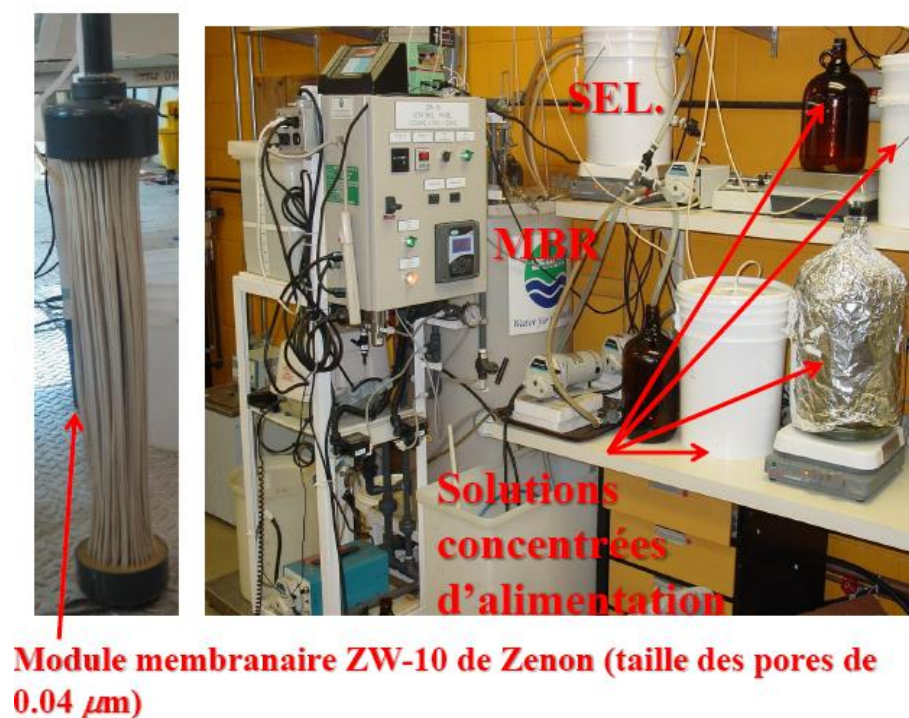


Figure A3.2 - Photos du MBR et du module membranaire ZW-10 de Zenon

⁵ Le sel $\text{Fe}_4(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ est partiellement hydraté et contient au minimum 72 % de $\text{Fe}_4(\text{SO}_4)_3$

ANNEXE 4 - Dosages des acides gras volatils, des polysaccharides et des protéines

A4.1 Analyse des acides gras volatils

Les acides gras volatils ont été analysés sur des échantillons filtrés avec un filtre 0.45 μm et directement sur les effluents (perméat) du module membranaire (porosité nominale de 0.04 μm). Le protocole de préservation et d'analyse est réalisé selon les étapes suivantes :

- 1.5 mL d'échantillon filtré sont conservés dans des vials chromatographiques ombrés d'un volume de 2 mL;
- 10 μL d'acide phosphorique H_3PO_4 6N sont ajoutés dans chaque vial;
- Les vials sont réfrigérées à 4°C jusqu'au moment d'analyse pour éviter toute activité bactérienne (ou congelées si la préservation est prévue pour plusieurs semaine);

Les analyses sont réalisées sur un appareil de chromatographie en phase gazeuse Varian CP-3380 équipé d'un auto-échantillonneur CP-3380 et d'un détecteur FID à 300°C. Une colonne sélective pour les acides gras volatils (WCOT fused silica 25MXO, 32 mm ID FFAP-CB) a été utilisée pour séparer les acides acétique, propionique et butyrique. Pour réaliser cette séparation, un programme de température a été réglé sur le four selon le schéma suivant :

- 100°C sont maintenus pour deux minutes;
- Ensuite la température est augmentée de 100°C à 200°C à un taux régulier de 20°C /min;
- Puis la température est maintenue à 200°C pour une durée totale de 20 minutes.

Les analyses des échantillons sont quantifiées en utilisant une courbe de calibration réalisée avec des étalons préparés avec des solutions pures d'acides acétique, propionique et butyrique. À cet effet, les 3 acides sont ajoutés à concentrations égales dans chaque étalon (par exemple, l'étalon à 100 mg. L^{-1} contient 100 mg. L^{-1} d'acides acétique, 100 mg. L^{-1} propionique et 100 mg. L^{-1} butyrique chaque acide).

Les concentrations en VFAs sont exprimées en mg COD. L^{-1} en utilisant les ratios théoriques suivants : 1.066 g COD/g acide acétique, 1.512 g COD/g acide propionique et 1.816 g COD/g acide butyrique.

A4.2 Analyse des polysaccharides

Les sucres, les oligosaccharides et les polysaccharides, conduisent au développement d'une coloration orange, lorsqu'ils sont traités avec du phénol et de l'acide sulfurique concentré. La réaction est sensible et la couleur est stable.

Les échantillons sont chauffés en présence d'acide sulfurique concentré et de phénol. Durant le chauffage, les polysaccharides sont hydrolysés par l'acide sulfurique puis les monosaccharides sont déshydratés par le phénol (coloration orange). Le protocole analytique se déroule selon les étapes suivantes :

- 1ml de phénol à 5% (m/v) est ajouté à 1 ml d'échantillon (fraction filtrable de boues) dans une éprouvette adéquate (tube à DCO, par exemple);
- Le mélange est homogénéisé au vortex;
- 5 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré sont ajoutés à ce mélange;
- Le tout est maintenu dans un bain marie à 100°C pour 5 minutes;
- Les tubes sont mis ensuite au repos à l'obscurité pour 30 min;
- La lecture se fait dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 492 nm contre un blanc réactif (eau Milli-Q)

Les concentrations en polysaccharides sont mesurées à partir d'une gamme d'étalons préparée avec du glucose ($0\text{-}200\text{ mg glucose. L}^{-1}$). Les résultats sont exprimés en termes d'équivalent glucose ($\text{mg glucose. L}^{-1}$) ou encore en mg COD. L^{-1} . Un ratio de $1.066\text{ g COD. g glucose}$ a été utilisé pour effectuer cette conversion.

Il faut noter que la couleur des échantillons à analyser continue à se développer. Une lecture rapide est recommandée endéans les 10 à 15 minutes après la phase de repos à l'obscurité. Il est fortement conseillé de réduire le nombre d'échantillons à analyser à la fois pour avoir une bonne reproductibilité dans les analyses.

A4.3 Analyse des protéines

A4.3.1 Méthode de Hartree

Sous des conditions alcalines, l'ion cuivre divalent forme un complexe avec les liaisons peptides dans les quelles il est réduit en ion monovalent. Le cuivre monovalent et les groupes radicaux de tyrosine, tryptophane et cystéine réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour former un complexe de couleur bleue. Les réactifs et les étapes d'analyse sont décrits dans les deux points suivants :

Réactifs

- Réactif A est préparé avec 2 g de tartrate de potassium et de sodium $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 10 g de carbonate de sodium, 500 mL de NaOH 1N et compléter à un litre avec de l'eau Milli-Q. Le réactif A peut être gardé pour 2 à 3 mois;
- Réactif B est préparé avec 2 g de tartrate de potassium et de sodium $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1 g de sulfate de zinc $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10 mL de NaOH 1 N et compléter à 100 mL avec de l'eau Milli-Q. Le réactif B peut être gardé pour 2 à 3 mois;
- Réactif C est préparé du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans de l'eau Milli-Q en raison de 1 pour 15 (v/v).

Test

- Ajouter 0.9 mL du réactif A à 1 mL d'échantillon dans un tube adéquat (type DCO) et mélanger au vortex;
- Incuber les tubes à 50°C (bain marie) pour 10 minutes et refroidir à température ambiante;
- Ajouter 0.1 mL du réactif B à ce mélange, mélanger au vortex et incuber pour 10 minutes à température ambiante;
- Ajouter rapidement 3 mL du réactif C à chaque tube, mélanger au vortex et incuber pour 10 minute à 50°C;
- Refroidir à température ambiante;
- Lire les absorbance sur un spectrophotomètre à 650 nm.

La courbe d'étalonnage est tracée à partir d'une gamme d'étalons préparée avec de l'albumine de sérum bovin (*BSA, bovin serum albumin*). Les concentrations des étalons dépendent des

concentrations des protéines dans les échantillons qu'on peut prédire relativement avec la DCO de la solution.

A4.3.2 Méthode au BCA

Le test à l'acide bicinchoninique (*BCA, bicinchoninic acid assay*) a été utilisé selon le protocole opératoire décrit dans Smith et al. (1985). Un kit complet (*A Pierce® BCA protein assay kit*) pour développer ce test a été acheté et utilisé dans ce travail. Ce kit contient deux réactifs A et B et des ampoules de BSA pour préparer les étalons.

Réactifs

- Réactif A (500 mL): contenant des carbonates de sodium, des bicarbonates de sodium, l'acide bicinchoninique et le tartrate de sodium dans une solution de NaOH 0.1 M;
- Réactif B (25 mL): sulfate de cuivre 4 % (m/v);
- Réactif C : est préparé en ajoutant 50 mL du réactif A à 1 mL du réactif B.

Test

- 0.1 mL d'échantillons sont ajoutés à 2 mL du réactif C;
- Mélanger le tout au vortex;
- Incuber à 60°C pour 30 minutes ou à température ambiante pour 2 heures;
- Lire rapidement au spectrophotomètre à 562 nm (disons pendant 10 minutes max.) car le développement de la couleur continue après l'incubation.

La courbe d'étalons est préparée avec du BSA selon la même procédure d'analyse.

ANNEXE 5 - Analyse de l'activité enzymatique dans les extraits des EPS

Pour vérifier si les solutions contenant les EPS extraites étaient non contaminées par du matériel intracellulaire (absence de lyse cellulaire), l'activité enzymatique glucose-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) a été quantifiée par analyse du taux de production de la NADH selon le protocole décrit dans (Lessie and Vander Wyk, 1972). Le protocole d'analyse est le suivant :

- La solution de substrat a été préparée avec 0.2 M Tris-HCl (pH 8.5), 0.2 M 2-mercaptoéthanol, 0.0005 M de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et de 0.01 M de D-glucose-6-phosphate;
- 800 μ L de substrat sont ajoutés à 200 μ L du surnageant contenant les EPS;
- Le tout est incubé à température ambiante pour 30 minutes;
- Les absorbances sont mesurées à 340 nm et enregistrées chaque les 10 secondes pour 30 minutes.

Les résultats sont exprimés en nmol de nicotine adénine dinucléotide hydrogène (NADH) formé par litre par minute per minute. Ils peuvent également être exprimés par nmol nicotine adénine dinucléotide hydrogène (NADH) formé par g de VSS.

Si les absorbances mesurées pour un échantillon donné restent inchangées ou varient de façon non significative dans le temps, les EPS extraites sont considérés être non contaminés en matériel intracellulaire et le protocole d'extraction utilisé est supposé être non destructif.

ANNEXE 6 - Dosage d'ozone soluble

La concentration en ozone soluble a été mesurée par la méthode colorimétrique à l'indigo à une longueur d'onde fixée à 600 nm.

- Préparer 5 vials claires de 45 ml (2 blancs et 3 répliques);
- Mettre 20 ml de la solution d'indigo à 3% à l'aide d'une dispensette Brinkman;
- Faire un blanc en ajoutant 0.3 ml d'eau Milli-Q à l'aide d'une seringue en verre de 1 ml, à 20 ml de solution d'indigo 3% (vials 1 et 2);
- Utiliser des cellules de 1 cm;
- Faire le zéro du spectrophotomètre avec de l'eau Milli-Q;
- Mesurer l'absorbance à 600 nm;
- Ajouter 0.3 ml de la solution-mère d'ozone à l'aide d'une seringue en verre de 1 ml, en trempant l'aiguille dans la solution d'indigo 3% (vials 3 et 4 et 5) pour prévenir le dégazage;
- Mesurer l'absorbance de la solution-mère d'ozone à 600 nm;
- Calcul de la solution-mère d'ozone:

$$O_3(\text{mg/L}) = \frac{\Delta A}{0.42 * 1\text{cm}} * \frac{V_t}{V_e} \quad (\text{A6.1})$$

où :

$$\Delta A = A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}$$

$$V_t: \text{Volume totale} = V_{\text{réactif (indigo)}} + V_{\text{échantillon}}$$

$$V_e: \text{Volume échantillon}$$

$$1 \text{ cm}: \text{longueur du trajet optique}$$

ANNEXE 7 - Ozonation du résidu endogène

Comme il a été signalé dans le chapitre (3), un objectif spécifique optionnel, dédié à l'étude de l'ozonation du résidu endogène, a été ajouté à ce projet. Le résidu endogène est une composante des boues activées dont la dégradation de façon biologique se fait selon une cinétique très lente. Dans ce chapitre, il est proposé d'étudier le degré de solubilisation du résidu endogène en fonction de la dose d'ozone appliquée et de déterminer la biodégradabilité des sous-produits d'ozonation. Les résultats de cette étude permettront d'évaluer la demande en ozone pour la solubilisation du résidu endogène et de déterminer si une étape d'ozonation est recommandée après une digestion (aérobie) des boues dans les stations d'épuration pour réduire la production des boues. Les principaux résultats présentés dans ce chapitre ont été intégrés dans l'article Labelle et al. (2011).

A7.1 Matériel et méthodes

Le résidu endogène a été produit par digestion aérobie prolongée des boues générées dans le bioréacteur à membrane opéré à 5.2 d de SRT et à 11.7 h de HRT. Ces boues composées de deux fractions (X_H et X_E) lorsqu'elles sont soumises à une telle digestion en cuvée génèrent du résidu endogène «pur» après 3 à 4 semaines de digestion à 20°C. Comme la concentration des boues d'origine était relativement faible (865 mg VSS/L \pm 30), la concentration du résidu endogène généré était également faible (\approx 400 mg VSS/L). Pour les fins des essais, le résidu endogène a été concentré par centrifugation pour atteindre une concentration moyenne de 2000 mg VSS/L. Le résidu endogène a été lavé deux fois avec de l'eau déionisée (Milli-Q) par resuspension et centrifugation pour éliminer les matières solubles organiques et inorganique pouvant avoir une demande d'ozone (alcalinité, TOC soluble, etc.)

L'effet de l'ozone sur X_E a été investigué par l'application d'une série de doses d'ozone soluble au résidu endogène (mg O_3 /mg X_E). L'ozone soluble a été préparé en faisant buller l'ozone gazeux produit à l'aide d'un générateur (OzoneLab, modèle OL100) alimenté en oxygène ultra-pur (UHP) pour une période de 2 à 3 heures dans une colonne contenant un volume de 5 L d'eau et équipée d'un diffuseur de fond. Pour augmenter la concentration en ozone dans la phase aqueuse, le réacteur a été posé dans un bain de glace (température de 3 à 4°C) durant toute la

période de bullage d’ozone gazeux. La concentration en ozone soluble dans la colonne a été mesurée par la méthode dite à l’indigo. Cette méthode colorimétrique est décrite dans l’Annexe 6.

Les sous-produits d’ozonation ont été caractérisés en termes de carbone organique total (TOC_{oz}), carbone organique total filtré à 0.45 μm (fTOC_{oz}) et carbone organique total floculé à l’aide de sulfate de zinc et filtré à 0.45 μm (ffTOC_{oz}) et colloïdal filtré à 0.45 μm (cfTOC_{oz} = fTOC_{oz} - ffTOC_{oz}). L’indice «oz» indique que les concentrations en carbone organique ont été mesurées sur des échantillons ozonés. Les analyses ont été faites principalement en termes de TOC car les conditions opératoires pour plusieurs doses spécifiques indiquaient parfois des valeurs de COD faibles de l’ordre de 10 à 40 mg COD/L. Les analyses de COD pour cette gamme sont moins précises que celles du TOC.

A7.2 Résultats et discussion

A7.2.1 Sous-produits d’ozonation

Différentes doses d’ozone exprimées en termes de concentration spécifique d’ozone (Coz en mg O₃/ g COD_i) ont été appliquées au résidu endogène (concentration initiale avant ozonation étant COD_i). Pour l’ensemble des tests, Coz variait dans la plage allant de 50 à 1400 mg O₃/g COD_i. L’étendue de solubilisation du résidu endogène a été exprimée par trois ratios :

- Le premier indique toute la matière organique filtrable à 0.45 μm générée après ozonation incluant les colloïdes : fTOC_{oz}/TOC_i, TOC_i étant le carbone organique avant ozonation;
- Le second indique la fraction soluble du carbone organique générée après ozonation n’incluant pas les colloïdes : ffTOC_{oz}/TOC_i. Une étape de floculation au sulfate de zinc précédait la filtration à 0.45 μm , ce qui permet de retenir la fraction colloïdale susceptible de passer à travers un filtre 0.45 μm ;
- Le troisième représente la différence entre les deux premiers ratios et est dès lors indicateur des matières colloïdales générées suite à l’ozonation du X_E et qui passent à travers un filtre 0.45 μm : cfTOC_{oz}/TOC_i

Ainsi, l'effet de l'ozone a été apprécié en traçant les profils suivants : $f\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{TOC}_i$, $ff\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{TOC}_i$ et $cf\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{TOC}_i$ en fonction de la dose spécifique d'ozone Coz ($\text{mg O}_3/\text{g COD}_i$). Les profils montrant l'évolution des 3 ratios sont présentés sur la Figure A7.1.

L'évolution des ratios $f\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{TOC}_i$ et de $ff\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{TOC}_i$ indique un comportement quasi-linéaire pour des doses spécifiques d'ozone inférieures à $450 \text{ mg O}_3/\text{L}$. À cette dose, plus de 85 % du X_E a été solubilisé : les sous-produits d'ozonation filtrés à $0.45 \mu\text{m}$ contenaient plus de 64 % de COT soluble, le reste étant colloïdal de taille inférieure à $0.45 \mu\text{m}$. Le rendement de solubilisation (η_{oz}) exprimé en gramme de $f\text{TOC}_{\text{Oz}}$ ou de $ff\text{TOC}_{\text{Oz}}$ par gramme d'ozone consommé ($\text{g C}/\text{g O}_3$) affichait des valeurs moyennes de $4.7 \text{ g } f\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{g O}_3$ et de $3.8 \text{ g } ff\text{TOC}_{\text{Oz}}/\text{g O}_3$, respectivement. Ces rendements ont été déterminés à partir des pentes des profils de la Figure A7.1 en considérant un ratio de conversion COD : TOC de $2.749 \text{ g COD}/\text{g C}$ pour le résidu endogène initial (valeur déterminée expérimentalement dans l'article 2). Quelques valeurs rapportées pour le rendement d'ozonation η_{oz} recensées dans la littérature sont présentées dans le tableau A7.1 tiré de notre article (Labelle et al., 2011). Le rendement η_{oz} obtenu dans cette étude reste dans la plage de 1 à $8.2 \text{ g COD}/\text{g O}_3$ indiquée dans cet article.

Table A7.1 Rendement d'ozonation (Labelle et al., 2011).

η_{oz} (g COD/g O_3)	Référence
9.6	Labelle et al. (2011), boues synthétiques (source de carbone: acétate)
8.2	Zhang et al. (2009)
4.8	Manterola et al. (2008)
4.3	Deleris 2001
4.1-7.7	Nagare et al. 2008
3.2	Yan et al. 2009
2.7-5.9	Dogruel et al. 2007
2.1	Paul & Debellefontaine 2007
0.7 – 3.6	Labelle et al. (2011), résidu endogène obtenu par centrifugation des boues synthétiques (source de carbone: acétate)
1.0	Ahn et al. (2002); Egemen et al. (2001)

Pour des doses spécifiques (Coz) excédant 450 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$, les courbes déterminant la solubilisation du X_E montraient un comportement de saturation marqué par un plateau s'identifiant davantage pour des doses spécifiques d'ozone supérieures à 800 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$. La fraction colloïdale contenue dans les sous-produits d'ozonation, telle qu'elle est décrite par le profil du ratio $\text{cfTOC}_{\text{Oz}}/\text{TOCi}$, montrait un comportement variable. Après une augmentation quasi linéaire pour des doses inférieures à 220 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$, un plateau pour des concentrations entre 220 et 450 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$, un déclin graduel venait marquer cette fraction pour des doses spécifiques supérieures à 450 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$. Le plateau observé à fortes doses pour fTOC_{Oz} (correspondant à 95 % de solubilisation du X_E), suggère que l'ozone ne permet pas de minéraliser les sous-produits d'ozonation (conversion en CO_2) pour la gamme de doses spécifiques d'ozone testée (50 à 1400 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$). À une dose de 800 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$, 15 % de minéralisation ont été reportés par Délérís (2001) pour des systèmes de transfert gaz-liquide appliqués à des boues réelles (contenant X_H , X_E , et $X_{U,\text{Inf}}$ et autres composantes organiques solubles et colloïdales et inorganiques particulières, solubles et colloïdales). Le même auteur indique une minéralisation complète à une dose colossale de 8000 mg $\text{O}_3/\text{g VSS}$. Ces informations confirment que pour les doses relativement inférieures appliquées dans ce projet au résidu endogène, l'absence de minéralisation semble bien justifiée et les 15 % de minéralisation observés dans Délérís (2001) pourraient être justifiés par la minéralisation des sous-produits de la lyse de la biomasse active qui était absente dans nos tests. En effet, pour les doses testées, le phénomène le plus marquant était la consommation de la fraction colloïdale, particulièrement pour des doses au-delà de 800 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$. Le ratio représentant la fraction colloïdale passe de 0.21 à 0.06 g $\text{cfTOC}_{\text{Oz}}/\text{g O}_3$ lorsque la dose spécifique en ozone grimpe de 450 à 1400 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$. Ce phénomène laisse penser qu'une dose spécifique optimale d'ozone se trouve à la fin de la partie linéaire des profils fTOC_{Oz} et ffTOC_{Oz} de la Figure A7.1 (aux alentours de 450 mg $\text{O}_3/\text{g CODi}$). Appliquer des doses spécifiques plus élevées favorise plutôt la transformation du TOC colloïdal en TOC soluble et probablement une ré-oxydation des sous-produits solubles.

Ces considérations confirment que le rendement de solubilisation dépend de la composition chimique des boues ozonées y compris les fractions solubles organiques et inorganiques exerçant une demande en ozone. Le rendement ainsi déterminé reste un paramètre très spécifique à des boues générées dans un système biologique alimenté avec un même affluent et contenant une charge polluante et une force ionique sensiblement constantes. La fréquence d'ozonation des

boues et l'existence d'une dose optimale au-delà de laquelle le rendement baisse énormément sont tous des facteurs qui viennent suggérer que η_{oz} doit être interprété avec une grande précaution. Cependant, les auteures ne tiennent pas compte de cette réalité et calculent souvent un rendement apparent, ce qui explique notamment la vaste gamme de 1 à 8.2 g COD/ g O_3 rapportée dans Labelle et al. (2011).

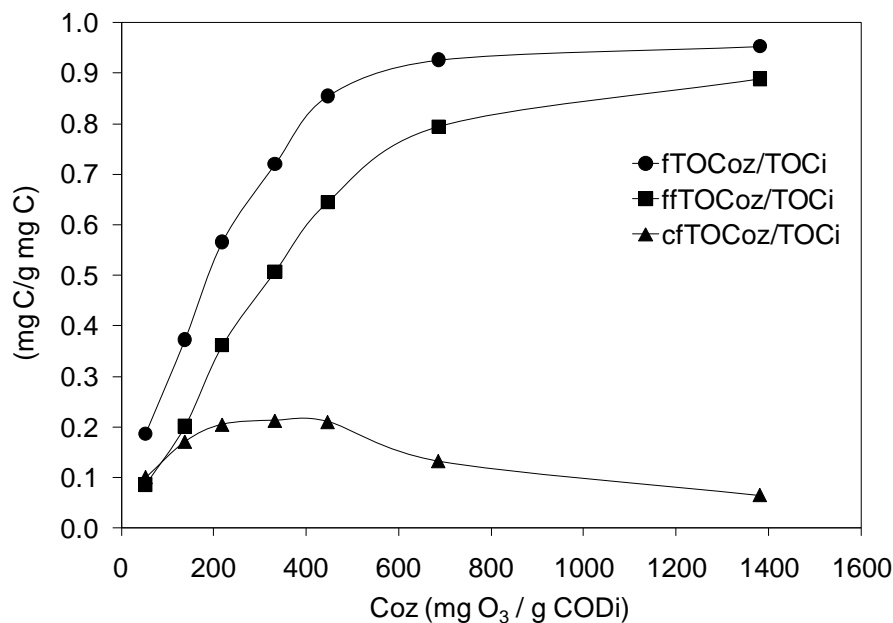


Figure A7.1- Effet de l'ozone sur la solubilisation du résidu endogène

L'étude de la biodégradabilité des sous-produits d'ozonation s'avérerait très importante pour une éventuelle valorisation du fTOCoz dans une filière de traitement biologique. Cet aspect est détaillé dans la section A7.2.2.

A7.2.2 Biodégradation des sous-produits d'ozonation du résidu endogène

La biodégradabilité des sous-produits d'ozonation du résidu endogène a été évaluée en termes de BOD₅ totale et filtrée à 0.45 μm . Trois ratios ont été établis pour apprécier la biodégradabilité de ces sous-produits :

- Le premier est basé sur la BOD₅ totale mesurée sur les échantillons ozonés. Ceci comprend les sous-produits filtrables (solubles et colloïdaux) générés suite à l'ozonation du X_E mais aussi les fractions particulières dont la biodégradabilité a été améliorée après

ozonation. Le ratio est exprimé par rapport à la COD initiale des échantillons ozonés (CODi) : $BOD_{Oz}/CODi$;

- Le second est exprimé d'une façon similaire mais est plutôt dédié à la fraction filtrable (colloïdale et soluble) des produits d'ozonation du X_E filtrée à $0.45 \mu m$. Le ratio ainsi identifié ne tient pas compte de la biodégradabilité des fractions particulières supposée s'améliorer suite à l'opération d'ozonation : $fBOD_{Oz}/CODi$;
- Le troisième exprime le contenu biodégradable de la fraction filtrable des sous-produits d'ozonation du X_E . Il est exprimé par $fBOD_{Oz}/fTOC_{Oz}$.

Les profils décrivant les ratios $BOD_{Oz}/CODi$ et $fBOD_{Oz}/CODi$ en fonction de la dose spécifique d'ozone (Coz) sont présentés sur la Figure A7.2. Une lecture sur ces profils indique un comportement quasi-linéaire de la BOD_5 biodégradable (totale et soluble) jusqu'à une dose spécifique d'ozone de $450 \text{ mg } O_3/\text{g } CODi$ suivi d'une saturation des profils pour des doses supérieures. Cette situation vient suivre et confirmer les profils établis pour les sous-produits d'ozonation dans la section 8.2.1. Des valeurs de 0.27 et de 0.25 g $BOD_5/\text{g } CODi$ ont été enregistrées pour les ratios $BOD_{Oz}/CODi$ et $fBOD_{Oz}/CODi$ à une dose de $450 \text{ mg } O_3/\text{g } CODi$. Un écart très mince a été observé entre les profils de $BOD_{Oz}/CODi$ et $fBOD_{Oz}/CODi$ indiquant que les sous-produits biodégradables dans les échantillons ozonés étaient solubles ou colloïdaux. Ainsi, les sous-produits particuliers d'ozonation demeurent quasiment non biodégradables. Les taux de biodégradabilité pour la fraction particulière dans les échantillons ozonés étaient souvent inférieurs à $0.02 \text{ g } BOD_5/\text{g } CODi$.

Le degré de biodégradabilité des sous-produits filtrables a été exprimé pour les doses spécifiques d'ozone testées en termes de $fBOD_{Oz}/fTOC_{Oz}$. Ce ratio indique une augmentation linéaire pour enregistrer un maximum de $0.79 \text{ g } BOD_5/\text{g } C$ à une dose spécifique de $220 \text{ mg } O_3/\text{g } CODi$, suivie d'une légère diminution puis d'un plateau à des valeurs avoisinant $0.72 \text{ g } BOD_5/\text{g } C$. Ce plateau indique que l'augmentation de la dose spécifique d'ozone ne permet pas d'améliorer le degré de biodégradabilité des sous-produits d'ozonation et suggère l'existence d'une dose optimale, certainement inférieure à $450 \text{ mg } O_3/\text{g } CODi$. Ce qui nous amène aux mêmes conclusions tirées dans la section précédente.

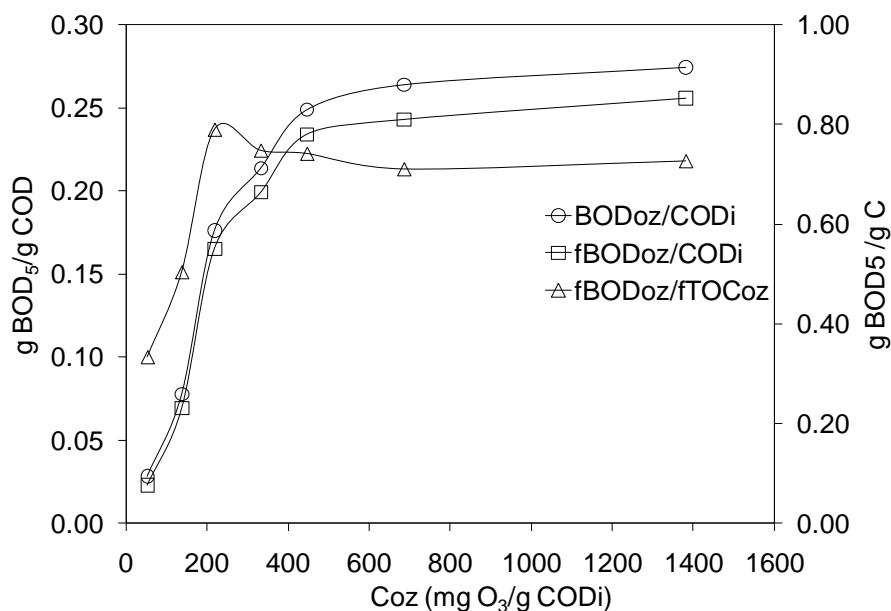


Figure A7.2 - Biodégradabilité des sous-produits d'ozonation du résidu endogène

Des degrés de biodégradabilité de 0.36 et de 0.38 g fBOD₅/ g fCOD à des doses spécifiques de 47 et de 200 mg O₃/ g CODi ont été rapportés par Paul and Debellefontaine (2007) suite à l'ozonation de boues activées. Dans cette étude, les fBOD₅ et fCOD sont celles reliés aux sous-produits d'ozonation. Par application d'un taux de conversion raisonnable (COD : TOC) de 2.7 g COD/g C, ces degrés de biodégradabilités deviennent 0.97 et 1.03 g BOD₅/ g C. Ces valeurs sont plus élevées que celles enregistrées pour le pic et le plateau déterminé dans notre étude et indiquent d'une part que le résidu endogène a une demande plus élevée en ozone comparé à des boues activées pour un même degré de solubilisation et d'autre part, que l'ozonation du X_E semble générer plus de sous-produits filtrables récalcitrants (non biodégradables).

Contrairement à l'étude de Paul and Debellefontaine (2007) qui concluait que toute la COD solubilisée suite à l'ozonation de boues municipales était biodégradable, d'autres études réalisées par couplage du procédé d'ozonation à un système de boues activées indiquaient une accumulation de la COD filtrable non biodégradable à l'effluent de leurs systèmes (Délérès et al., 2002; Nagare et al., 2008). Cette accumulation vient confirmer la génération de sous-produits d'ozonation non biodégradables, ce qui laisse penser que ces éléments filtrables récalcitrants proviennent plus de l'ozonation des composantes X_{U,Inf} et X_E.

Les résultats sur la biodégradabilité des sous-produits d'ozonation émanant de la littérature sont reliés à l'ozonation de liqueurs mixtes produites dans des systèmes de boues activées qui

contiennent plusieurs fractions particulières, colloïdales et solubles (organiques et inorganiques) autres que le résidu endogène. La comparaison des résultats de biodégradabilité du résidu endogène avec ceux de la littérature doit être faite avec précaution.

A7.2 Conclusion

Le résidu endogène a été soumis à des tests d'ozonation en cuvée à des doses spécifiques d'ozone variant dans la plage 50 à 1400 mg O₃/g CODi. Au terme de ces tests, les conclusions suivantes ont été formulées :

- La solubilisation du résidu endogène augmentait quasi linéairement avec la dose spécifique d'ozone appliquée pour atteindre plus de 85% à 450 mg O₃/ g CODi. Au-delà de cette dose, une saturation semble s'établir sur la courbe de solubilisation et une augmentation se chiffrant à moins de 10 % a été enregistrée pour des doses allant jusqu'à 1400 mg O₃/ g CODi;
- La biodégradabilité du résidu endogène, fraction lentement biodégradable dans les systèmes de boues activées, a été augmentée par ozonation pour atteindre 0.25 g BOD₅/ g CODi à la dose de 450 mg O₃/ g CODi. Un comportement similaire de saturation venait marquer la biodégradabilité des sous-produits d'ozonation une fois cette dose était dépassée. Seulement une augmentation additionnelle de 0.02 g BOD₅/ g CODi a été observée lorsqu'une dose de 1400 mg O₃/ g CODi a été appliquée ;
- Pour les fortes doses spécifiques d'ozone (> 450 mg O₃/ g CODi), une demande d'ozone pour les sous-produits d'ozonation a été favorisée, particulièrement par l'oxydation des fractions colloïdales filtrables et probablement des fractions solubles. À cet effet, une dose optimale pour la solubilisation du résidu endogène devrait se situer aux alentours de 450 mg O₃/ g CODi.
- La minéralisation des sous-produits d'ozonation n'a pas été observée pour la plage de dose spécifique testée.